# Beiträge zur Kenntnis

der

# Pharmokologie von Convallaria majalis.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der hohen philosophischen Fakultät der Universität

ROSTOCK

vorgelegt von

ELSE HIRSCHBERG

aus Berlin.

1928.

Buchdruckerei Richard Beckmann, Rostock i. Meckl.

Referent: Prof. Dr. Stoermer.

Meiner lieben Mutter

in Dankbarkeit

gewidmet.

In der Sitzung der Münchener Pharmazeutischen Gesellschaft vom 10. November 1916 sagte bei Gelegenheit eines Vortrages über die chemische Untersuchung vegetabilischer Arzneidrogen Sieger[1]) folgendes: „Infolge neuer Strömungen in der modernen Pharmakologie hat es den Anschein, als ob die (einheimischen) Arzneidrogen eine neue Würdigung erfahren sollten. — Die einzelnen darin enthaltenen Stoffe bis zur Ermittlung der Konstitution aufzuführen, dürfte sich erübrigen. Für die Therapie genügt es, neue pharmakologische Individuen aus dem Reichtum unserer einheimischen Flora, auf den schon im vorigen Jahre Prof. Zoernig in unserer Gesellschaft aufmerksam machte, zu isolieren." Auf diesem Standpunkte stand Prof. Kobert schon lange vor Ausbruch des Krieges, als er mir das Thema zu nachstehender Arbeit zuwies. Die Beendigung dieser Untersuchung hat sich, da ich mehrmals äußerer Umstände wegen aussetzen mußte, mehrere Jahre hingezogen.

Es kann heutzutage als sicher angesehen werden, daß in den Blättern und in den Samen der Digitalis purpurea L. und der Digitalis grandiflora All. neben den spezifischen zur pharmakologischen Gruppe des Digitalins gehörigen Substanzen noch Vertreter einer zweiten Gruppe von Substanzen, nämlich der der Saponine vorhanden sind. Einige Autoren treten dafür ein, daß an der lebensrettenden Wirkung der ärztlich benutzten Präparate beide Gruppen von Substanzen beteiligt sind, während die meisten Forscher alter Tradition folgend, den Saponinen nur schädliche Wirkungen zuschreiben.

Unter solchen Umständen lag es nahe, auch bei den als Ersatzmittel der Digitalis benutzten Pflanzen neben den schon bekannten Substanzen der Digitalingruppe nach Saponinen zu suchen. Im Institute von Prof. Kobert wurde daraufhin von Fuckelmann[2]) im Kraut der Adonis vernalis neben dem

[1]) Sieger, Zeitschr. f. angew. Chemie, Jahrg. 29, 1916, Wirtschaftlicher Teil, S. 702.

[2]) J. M. Fuckelmann, Zur Kenntnis der Bestandteile und Wirkungen der Adonis vernalis, Sitz.-Ber. und Abhandlungen der Naturforsch.-Gesellsch. zu Rostock (N. F.), Bd. 3, S. 267. 1911, (Historisch-kritischer Teil) und Bd. 3, S. 315, 1911 (Experimenteller Teil).

Adonidin die saponinartige Adonidinsäure und von Hessel[1]) in drei Arten von Strophanthussamen die Strophanthinsäure nachgewiesen. Sieburg[2]) hat diese dann aus den Samen von Strophantus gratus in chemisch reiner Form dargestellt, analysiert und gezeigt, daß sie in jeder Beziehung ein echtes Saponin ist. Ja sie läßt sich sogar ihrer Formel nach in die von Kobert[3]) aufgestellte Reihe von Saponinsubstanzen, deren elementaranalytische Werte annähernd zu der Formel $C_nH_{2n-8}O_{10}$ passen, ohne Zwang einreihen. Unter solchen Umständen durfte erwartet werden, daß auch bei der Convallaria majalis analoge Verhältnisse vorliegen, denn auch diese Pflanze gehört unzweifelhaft zur Gruppe der Ersatzmittel der Digitalis. Für uns hier in Mecklenburg hat das Maiblümchen dadurch ein lokales Interesse, weil in Schwerin außerordentlich große Kulturen dieser Pflanze seit vielen Jahren angelegt sind, von denen aus ein Versand bis in ferne Länder stattfindet. Sparsam, wie wir seit dem Kriege in Deutschland sind, müssen wir den dortigen Gärtnern raten, auch den Abfall dieser Kulturen auszunutzen. Nach dieser Richtung hin hat Prof. C. Wehmer[4]) in Hannover einen wichtigen Fingerzweig gegeben, indem er nachwies, daß Blätter und Stengel des Maiblümchens eine technisch brauchbare, ziemlich zähe und lange Faser liefern. Bisher ist diese Faserart nirgends erwähnt, geschweige denn technisch ausgenutzt worden. Wohl aber sind andere, und zwar dem Maiblümchen verwandte Monokotyle als wichtige Faseerliferanten, z. B. für das Seilergewerbe und der Netzfabrikation längst herangezogen, so die Blattfasern der Agaven als Sisalhanf, Phormium als neuseeländischer Flachs, Musa als Manillahanf usw. Die Maiblümchenblätter stehen doch z. T. kostenlos zur Verwendung. Wehmer zeigte auf der Jahresversammlung der Vereinigung für angewandte Botanik zu Frankfurt am 25. Sept. 1916 fertig verarbeitete Maiblümchenbastfasern vor. Außer der Verwen-

[1]) Ewald Hessel, Zur Kenntnis der Bestandteile und Wirkungen der Strophantusdrogen. Sitz.-Ber. und Abh. der naturf. Ges. zu Rostock, Bd. 5, 1913, S. 137.

[2]) E. Sieburg, Ueber Strophanthinsäure. Ber. der Deutschen Pharmaz. Ges., Jahrg. 23, 1913, S. 278.

[3]) Kobert, Saponine. Eulenburgs Realenzyklopädie, Vierte Auflage, Bd. 13, 1913, S. 23.

[4]) C. Wehmer, Einige bislang ungenutzte pflanzliche Rohstoffe. Chem. Ztg. 40, 1916, Nr. 153. S. 1073.

dung zu Bastfasern kommt nun zweitens die Verwendung aller nicht als Blumen verkauften Teile der Pflanze zur Darstellung medizinisch brauchbarer Auszüge in Betracht. Nach dieser Richtung, hoffe ich, wird meine kleine Studie klärend wirken.

## 1. Übersicht über die bisherige Literatur.

Aus dem Kraut der in den älteren Zeiten therapeutisch angewandten, dann für lange Zeit obsolet gewordenen und endlich wieder in Aufnahme gekommenen Maiblume hat zuerst Walz[1]) in Heidelberg zwei Körper dargestellt, von ihm Konvallarin und Konvallamarin genannt. Von seinen Angaben über den Gang der Untersuchung sind für uns hier folgende Einzelheiten von Wichtigkeit.

Zur Darstellung beider Stoffe extrahierte unser Autor die während der Blüte oder nach dem Verblühen mit der Wurzel gesammelte, getrocknete Pflanze mit Alkohol, schüttelte die grüne Tinktur mit basisch-essigsaurem Bleioxyd, befreite die filtrierte Flüssigkeit mittelst $H_2S$ von Blei und destillierte den Weingeist aus dem Filtrate ab. Bei dem Erkalten des Rückstandes bildeten sich Kristalle von Konvallarin, die mittelst Aether von Harz und Chlorophyll befreit wurden. Die Mutterlauge von diesen Kristallen wurde mit Wasser behandelt (wobei sich eine konvallarinhaltige, harzartige Masse ausscheidet), die wässrige Lösung mit Tierkohle digeriert, die auch noch etwas, durch siedenden Alkohol wieder ausziehbares, Konvallarin aufnimmt, dann aus der wässrigen Lösung mittelst Gerbsäure des Konvallamarin gefällt.

Das Konvallarin kristallisiert in geraden rektangulären Säulen, ist in Wasser kaum löslich, erteilt ihm aber die Eigenschaft beim Schütteln stark zu schäumen und kratzend zu schmecken, ist leicht löslich in Alkohol, unlöslich in Aether. Walz gibt ihm die Formel (bei 100° getrocknet) $C_{34}H_{31}O_{11}$, nach der jetzigen Schreibweise $C_{34}H_{62}O_{11}$. Er versuchte es nun hydrolysieren; es zerfällt in der Tat bei längerem Kochen mit verdünnten Säuren zu Zucker und zwar nach Votocek und Vondracek[2]) in dieselben Zuckerarten, die wir beim Konvallamarin kennen lernen werden; ferner bildet sich in Aether lösliches Konvallaretin $C_{28}H_{26}O_6$. Nach der jetzigen Schreibweise lautet diese Formel $C_{28}H_{52}O_6$ oder $C_{14}H_{26}O_3$.

Das Konvallamarin aus der Gerbsäureverbindung abgeschieden, ist ein weißes, in Wasser und Alkohol leicht lösliches, in Aether fast unlösliches, stark bitter, hintennach süßlich schmeckendes Pulver. Walz gibt dieser Substanz (bei 100° getrocknet) die Formel $C_{46}H_{44}O_{24}$, nach jetziger Schreibweise $C_{23}H_{44}O_{12}$. In wässriger Lösung

[1]) Walz, N. Jahrb. Pharmacie Bd. 10, S. 145; im Auszug in Vierteljahrsschr. prakt. Pharm. Bd. 8, S. 259. Referiert im Jahresbericht der Chemie; Jahrg. 1858, S. 518.

[2]) Votocek und Vondracek, Ber. d. Deutschen Chem. Ges., Jahrg. 36, 1904, S. 4372; Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen, Bd. 30, 1905, S. 118.

mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt, spalte sie sich in Zucker und in kristallinischen Flimmern ausscheidendes, bei dem Kochen zu harzartiger Masse werdendes Konvallamaretin. $C_{40}H_{36}O_{16}$, nach jetziger Schreibweise $C_{20}H_{36}O_8$. Die Maiblumen enthalten ferner nach Walz auch noch fettes Oel, Farbstoffe, Harz usw.

Die aus dem Konvallamarin bei Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure sich abspaltende Zuckersubstanz ist nach Votocek und Vondracek[1]) ein Gemisch von Glukose, Galaktose und einer Methylpentose.

Ich möchte mir gleich von vornherein zu der vorstehend referierten Arbeit folgende Bemerkungen erlauben. Die nähere Begründung wird allerdings erst aus den weiter unten folgenden einzelnen Angaben ersichtlich werden.

Die stark schäumende und kratzend schmeckende Substanz der Convallaria majalis, d. h. das Konvallarin von Walz, ist nach meinen Untersuchungen ein Gemisch von zwei Saponinsubstanzen, die wir gemäß der von Kobert eingeführten Bezeichnungsweise als neutrales und als saures Konvallarin bezeichnen und unterscheiden können. Das saure ist nach Analogie der Adonidinsäure und Strophantinsäure besser als Konvallarinsäure zu bezeichnen. Da diese Säure in Wasser unlöslich ist, wird es verständlich, daß Walz sein Konvallarin als in Wasser schwer löslich bezeichnet.

Ferner ist gegen die Darstellungsweise des Konvallarins von Walz einzuwenden, daß er die alkoholische Tinktur mit Bleiessig fällte und diesen Niederschlag wegwarf. Dieser Niederschlag ist nämlich keineswegs frei von Konvallarin; er enthält vielmehr die Gesamtmenge mindestens des sauren.

Gerbsäure fällt nach meinen Versuchen das Konvallarin stärker als das Konvallamarin, so daß Walz in seinem Konvallamarin unzweifelhaft Konvallarin mit eingeschlossen hatte.

Versuche über die Wirkung seiner Glykoside hat Walz meines Wissens weder angestellt noch anstellen lassen. — Erst als die Firma Merck sie in den Handel brachte, füllte Marmè[2]) diese Lücke aus. Die Versuche dieses Autors ergaben folgendes:

Das Konvallarin-Merck wirkte, trotzdem es sich in Wasser als fast unlöslich erwies, in Dosen von 3—4 g als

[1]) Votocek und Vondracek, Ber. d. Deutschen Chem. Ges., Jahrg. 36 (1904), S. 4372; Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen, Bd. 30 (1905), S. 118.

[2]) Marmé, Göttinger Gelehrte Anzeigen, Jahrg. 1867, Bd. II, Nachrichten, Nr. 9, S. 160.

Purgans, und zwar ohne sichtbare Beschwerden hervorzurufen. Die Versuchstiere blieben dabei ganz munter. Es scheint demnach diesem Körper nach Marmé, abgesehen von seinem etwas kratzenden Geschmack keine weitere, jedenfalls keine nachteilige Wirkung, außer der genannten, von früheren Ärzten an galenischen Präparaten der Konvallaria längst erkannten und auch therapeutisch benutzten zuzukommen. Nach meinen später anzuführenden Versuchen war das von Marmé benutzte Mercksche Präparat Konvallarin offenbar ein Gemisch, in dem ein in Wasser unlöslicher sauer reagierender Bestandteil, also Konvallarinsäure, vielleicht neben einem bei der Darstellung entstandenen Sapogenin und neben indifferenten Substanzen reichlich vorhanden war. Marmés Angaben beziehen sich jedenfalls auf ein derartiges Präparat. Die Durchfall erregende Wirkung kommt der Konvallarinsäure mit vielen Saponinen bei innerlicher Darreichung in großen Dosen zu.

Das bitterschmeckende, in Wasser lösliche Konvallamarin-Merck dagegen erregt nach Marmé bei brechfähigen Tieren schon in kleinen Gaben heftiges Erbrechen, gleichgültig, ob es per os oder subkutan oder direkt in das Gefäßsystem appliziert wird. Noch viel stärker aber wirkt es auf die Herztätigkeit ein, und zwar im Sinne des Digitalins und Helleboreïns. Auf die zahlreichen Arbeiten, welche teils für Tiere, teils für den Menschen die Herzwirkung bestätigt haben, gehe ich nicht ein. Nur soviel möchte ich sagen, daß wie die Schulmedizin so sogar auch die Homöopathie das Maiblümchen als Arzneimittel längst aufgenommen hat. Das „Lehrbuch der homöopathischen Therapie“ [1]) sagt: „Bei Klappenfehlern des Herzens hat Convallaria majalis oftmals vorzügliche Dienste geleistet, wenn bei beschleunigtem kleinen Pulse, bei heruntergekommenen schwächlichen jugendlichen Individuen Oedeme der Fußknöchel bestehen.“ Für Prof. Kobert und für mich besteht nicht der geringste Zweifel, daß das Konvallamarin ein echtes Glied der Digitalingruppe ist. Meine Untersuchung gilt nur demjenigen Bestandteil oder richtiger denjenigen Bestandteilen des Maiblümchens, welche nicht zur Digitalingruppe, sondern zur Saponingruppe gehören,

[1]) Lehrbuch der homöopathischen Therapie, nach dem gegenwärtigen Standpunkt der Medizin und unter Benutzung der neueren homöopathischen Literatur des In- und Auslandes bearbeitet. Achte vermehrte und verbesserte Aufl., Leipzig 1915, Bd. I, S. 742.

die also der spezifischen Herz- und Gefäßwirkung bar sind.

Mit dem Veratrin kann sowohl das Konvallamarin, wie das Konvallarin nach Marmé hinsichtlich seiner chemischen Reaktionen in sofern verglichen werden, als beide Bestandteile der Maiblumen und nicht nur das Konvallamarin, wie Walz angibt, von konzentrierter Schwefelsäure gelb bis rotbraun gelöst und auf Zusatz von wenig Wasser schön violett gefärbt werden. Beide Körper geben ferner nach Marmé beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure ebenso wie das Veratrin eine blut- bis weinrote Lösung; die Lösung des Veratrin ist aber klar und auch etwas gesättigter rot. Im Überschuß zugesetztes Natron fällt aus den roten Lösungen schwach bräunliche Flocken. Die von Veratrin herrührenden lösen sich im Gegensatz zu den durch gleiche Behandlung des Konvallarins und Konvallamarins erhaltenen, nicht färbenden Flocken schon in kalter, konzentrierter Salzsäure mit schöner roter Farbe. Die von den Flocken getrennten alkalischen Filtrate aller drei Körper reduzieren Kupferoxyd und Wismutoxyd. (Kocht man Veratrin mit wäßrig verdünnter Schwefelsäure, so erhält man nach Marmé dieselbe rote Lösung; Alkalien scheiden daraus grüne Flocken ab, die sich in kalter konzentrierter Schwefelsäure mit roter Farbe lösen; diese Lösung erscheint bei auffallendem Licht grün.) Es unterscheiden sich diese drei Körper nach Marmé aber sehr bestimmt auch chemisch voneinander: das Veratrin durch seine Alkaloidnatur von den beiden anderen, das Konvallamarin durch seine Löslichkeit in Wasser von jenem sowohl wie von Konvallarin, der letztere Körper endlich durch seine Unlöslichkeit in Wasser, seine Fällbarkeit durch Wasser aus alkoholischer Lösung, sein indifferentes Verhalten gegen Gerbsäure selbst in angesäuerter Lösung, sowohl von Veratrin, wie von Konvallamarin. — Nimmt man reichlich Konvallarin, wenig konzentrierte Schwefelsäure, und etwas Wasser, so geht die violette Färbung in schmutziges Grün über.

Kürzlich hat J. Lindner[1]) die Konvallaria einer neuen chemischen Untersuchung unterzogen und die 56 Jahre älteren Angaben von Walz zum Teil widerlegt. Die Versuche Lindners, das Merckschе Konvallarin in kristallisierte Form überzuführen, schlugen fehl. Lindner versuchte das Kon-

[1]) Lindner, Akademie der Wissenschaften in Wien. Sitzung 10. Dez. 1914; Wiener chem. Monatshefte, Jahrg. 36 (1915), S. 257.

vallarin aus der alkoholischen Lösung mittelst Wasser und Äther zu reinigen. Es ist nach unserem Autor stark hygroskopisch und bildet wahrscheinlich ein schwer zerlegbares Hydrat. Die von Walz vorgenommene Trocknung bei 100° wird verworfen. Für dieses vermutliche Hydrat des Konvallarins nimmt Lindner[1]) die Formel $C_{25}H_{40}O_{10}$ an. Die Spaltung des Konvallarins in Konvallaretin und in Zucker wurde mit 2—10 proz. Schwefelsäure bei 100° vorgenommen. Eine glatte Spaltung in Konvallaretin und Zucker war selbst bei größeren Mengen nicht zu erzielen. Das Konvallaretin ist nur sehr wenig löslich in Wasser; man kann daher von ihm die zuckerhaltige Flüssigkeit abfiltrieren. Diese enthält geringe Mengen einer Säure, wahrscheinlich Lävulinsäure. Die Untersuchung des Zuckers ist Lindner noch nicht gelungen, wahrscheinlich liegt nach ihm Glukose vor. Der Rückstand von der Zuckerlösung ist nicht ganz löslich in Äther. Im unlöslichen Teil liegt wahrscheinlich ein Umwandlungsprodukt des Konvallaretins vor. Aus der ätherischen sowie aus der alkoholischen Lösung kristallisiert das Konvallaretin in scharf abgegrenzten Wetzsteinformen mikrokristallinisch, bräunt sich bei 75°—80° und schmilzt nicht bei 255°. Die Verbindung liegt offenbar in der Form eines Hydrates vor, von der Formel $C_{19}H_{28}O_4$. Methoxyl-Ketongruppen und Doppelbindungen enthält das Konvallaretinmolekül nicht. Es enthält zwei alkoholische Hydroxylgruppen.

Das Diazetylderivat ist sehr leicht löslich in Alkohol, Äther, Essigester und Benzol, weniger leicht löslich in Petroläther. Aus der Einwirkung von alkoholischer Lauge auf das Konvallaretin schließt Lindner auf das Vorhandensein einer Estergruppe (—CO—O—$CH_2$—). Beim Behandeln der Verbindung mit alkoholischer Lauge und bei darauf folgendem Verdünnen mit Wasser bildet sich ein Niederschlag; dieser war um so geringer, je länger und je höher erwärmt wurde. Für einen so gewonnenen Niederschlag berechnet Lindner[2])

---

[1]) Nimmt man die Formel $C_{25}H_{42}O_{10}$ an, so gehört unsere Substanz in die Kobertsche Reihe $C_nH_{2n}O_{10}$ und steht zwischen dem Yuccasaponin $C_{24}H_{40}O_{10}$ und dem Parillin von v. Schulz $C_{26}H_{44}O_{10}$. Vgl. Arbeiten des Pharmakolog. Instituts zu Dorpat, herausgeg. von R. Kobert, Bd. 14 (1896), S. 96, sowie R. Kobert in Eulenburgs Realenzyklopädie, 4. Aufl., Bd. 13 (1913), S 24.

[2]) Die Formel $C_9H_{12}O_2$ würde sich verallgemeinern lassen zu der Formel der Kobertschen Sapogenolreihe $C_nH_{2n-6}O_2$. Vgl. darüber Kobert, Eulenburg, Realenzyklopädie, 4. Aufl., Bd. 13 (1913), S. 25.

die Zusammensetzung $C_{18}H_{28}O_4 = (C_9H_{14}O_2)_2$. Aus dieser Formel folgert dieser Autor die Gegenwart eines Benzolrings im Konvallaretin.

Fassen wir alles in der Literatur Enthaltene zusammen, so können wir sagen, daß neben einem Herzgifte Konvallamarin, eine nicht aufs Herz im Sinne der Digitalis wirkende Substanz vorhanden ist, wie Walz und Lindner chemisch untersucht haben, und mit der ich mich im Nachstehenden beschäftigen werde. Nach meiner Auffassung ist sie, wie ich nochmals betone, im wesentlichen ein Gemisch eines neutralen Saponins, des Konvallarins im engeren Sinne mit einem sauren, der Konvallarinssäure. Unter Umständen ist auch noch ein in der Pflanze beim Trocknen entstehendes oder bei energischer Behandlung der Auszüge sich bildendes Sapogenin in dem Konvallarin der alten Autoren vorhanden. Nach Tschirch[1]) liegen über dieses Konvallarin der alten Autoren noch Arbeiten vor von Pouchet und Chevallier[2]), von Laigre[3]) und von Reichardt, die ich aber nicht in der Lage war, alle einsehen zu können. Nach diesen Autoren soll unsere Substanz ein starkes Abführmittel sein. Dies paßt ja ganz gut zu ihrer Saponinnatur.

## 2. Verarbeitung von Herba Convallariae majalis in foliis.

Als Ausgangspunkt meiner eigenen Untersuchung diente mir in diesem Abschnitt die Handelsdroge der Firma Caesar & Loretz, welche als Herba Convalleriae majalis in foliis bezeichnet wird. Sie wurde in grobzerkleinertem Zustande benutzt.

100 g davon werden zum Zweck der Extraktion aller darin etwa vorhandenen Saponinsubstanzen mit der vierfachen Menge destillierten Wassers unter Zusatz von Natriumkarbonat bis zur alkalischen Reaktion 30 Minuten gekocht, dann die schäumende Flüssigkeit durch Leinwand koliert und der Rückstand noch zweimal mit destilliertem Wasser und Natriumkarbonat ausgekocht. Je eine Probe der Auszüge wird mit verdünnter Salzsäure versetzt, um zu prüfen, ob noch etwas in Lösung gegangen ist. Tatsächlich ergibt sich jedesmal ein gallertartiger Niederschlag. Nachdem das Kraut dreimal ausgekocht worden ist, werden die vereinigten Dekokte nochmals filtriert

[1]) A. Tschirch, Handbuch der Pharmakognosie (Leipzig 1916), Bd. 2, S. 1548.
[2]) Pouchet et Chevallier, Nouveaux Remèdes, Jahrg. 1903.
[3]) Laigre, Thèse de Paris (1903). Ich gehe später darauf ein.

und mit verdünnter Salzsäure zwecks Trennung des sauren Saponins vom neutralem durch Fällung des ersteren versetzt. Man läßt den das saure Saponin einschließenden Niederschlag zum Absetzen einige Stunden stehen und filtriert ihn dann ab. Der Niederschlag wird zum Auswaschen mit Wasser angerührt und nochmals filtriert.

**a) Über das neutrale Saponin des Handelskrautes.**

Das Filtrat der ClH-Fällung des durch dreimaliges Auskochen erhaltenen Dekoktes mußte das neutrale Saponin, falls ein solches vorhanden war, neben dem Konvallamarin enthalten. Es wird zwecks weiterer Verarbeitung in zwei Teile geteilt. Der erste Teil wird neutralisiert, zur Trockne eingedampft und mit Methylalkohol dreimal ausgekocht. Der Auszug wird noch heiß filtriert. Das Filtrat wird wieder zur Trockne verdampft, dann mit wenig Methylalkohol wieder aufgenommen und diese Lösung mit wasserfreiem Äther gefällt. Der Niederschlag wird zum Absetzen stehen gelassen, durch ein gewogenes Filter filtriert, mit Äther gut ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Die 1,3 g Substanz, entsprechend 50 g Droge, werden in 26 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Lösung erfolgt ohne Alkalizusatz. 1 $cm^3$ enthät demnach 50 mg Substanz, in der das neutrale Saponin neben andern Stoffen enthalten sein dürfte, falls ein solches vorhanden ist. Mit diesem meist noch weiter verdünnten neutralen Saponin wurden folgende Versuche an Blut bezw. an Blutkörperchen angestellt. Die Technik dieser Versuche ist in meiner ganzen Arbeit immer ein und dieselbe und deshalb gelten die nachstehenden Bemerkungen für alle diese Versuche.

In eine Reihe von Reagenzgläschen werden meist je 5 $cm^3$ physiologische Kochsalzlösung mit 2 Tropfen defibrinierten Blutes oder 1 Tropfen dreimal gewaschener Hammelblutkörperchen, wie sie zum Wassermannschen Versuche benutzt werden, getan. Bei 10 $cm^3$ wird diese Menge verdoppelt. 1—2 der Gläschen bleiben ohne Saponinzusatz und dienen als Kontrollen. Die übrigen enthalten in physiologischer Kochsalzlösung gelöstes Saponin in steigender oder fallender Dosis. Die Gläschen bleiben nach einmaligem Umkehren unberührt bei Zimmertemperatur stehen. Nach spätestens 24 Stunden wird abgelesen, ob Hämolyse erfolgt ist oder nicht. H. bedeutet Hammelblutkörperchen. In Gläschen II—V ist der Zusatz von Blut bezw. H. nicht noch jedesmal besonders erwähnt. Die Saponinmenge oder genauer die Mengen der saponinhaltigen Substanz aus dem Ätherniederschlag sind in Milligramm angegeben. Das Ablesen erfolgte, wo nichts angegeben ist, nach 24 Stunden. NaCl bedeutet physiol. Kochsalzlösung.

**I. Versuch. Hammelblutkörperchen.**

I. 5 cm³ NaCl + 1 Tr. H. als erste Kontrolle.
II. 3 „ „ + 2 cm³ = 20 mg; rasch völlige Hämolyse bei **1:250.**
III. 4 „ „ + 1 „ = 10 „ ; rasch völlige Hämolyse bei **1:500.**
IV. 9 „ „ + 1 „ = 10 „ ; nach 24 St. fast tot. Hämolyse bei **1:1000.**
V. Zweite Kontrolle.

**II. Versuch. Hammelblutkörperchen.**

I. 5 cm³ NaCl + 1 Tr. H. als erste Kontrolle.
II. 3 „ „ + 2 cm³ = 10 mg; nach 1 St. völlige Hämolyse bei **1:500.**
III. 4 „ „ + 1 „ = 5 „ ; nach 20 St, völlige Hämolyse bei **1:1000.**
IV. 9 „ „ + 1 „ = 5 „ ; nach 24 St. nur partielle Hämol. b. **1:2000.**
V. Zweite Kontrolle.

Ergebnis: Die Grenze der völligen hämolytischen Wirkung des neutralen Saponins des Krautes liegt für Hammelblutkörperchen bei **1:1000.** Die Kontrollgläschen sind nach 24 Stunden intakt.

**III. Versuch. Menschenblut der Plazenta.**

I. 5 cm³ NaCl + 2 Tr. Blut als erste Kontrolle.
II. 4 „ „ + 1 cm = 50 mg; in 2 Min. totale Hämolyse bei **1:100.**
III. 4 „ „ + 1 „ = 25 „ ; nach 23 St. totale Hämolyse bei **1:200.**
IV. 3 „ „ + 2 „ = 20 „ ; „ 23 „ „ „ „ **1:250.**
V. 4 „ „ + 1 „ = 10 „ ; „ 23 „ „ „ „ **1:500.**
VI. 9 „ „ + 1 „ = 10 „ ; „ 23 „ „ „ „ **1:1000.**
VII. Zweite Kontrolle.

Ergebnis: Die Grenze der hämolytischen Wirkung für Menschenblut liegt noch unter 1 : 1000. Auch hier sind die Kontrollgläser am Ende des Versuchs noch intakt.

Alle in der Tabelle folgenden Blutversuche sind in gleicher Weise, meist wiederholt, angesetzt worden. Ich führe sie um Raum zu sparen verkürzt an.

**Tabelle I.**
**Übersicht über die hämolytische Wirkung des neutralen Saponins des Krautes.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | nach 23 St. totale Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ 23 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | früh totale Häm. | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | früh nur partielle Häm. | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | in 2 Min. totale Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 25 mg | 1:200 | nach 23 St. totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ 23 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ 23 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | „ 23 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | „ 24 „ „ „ | |

**Tabelle I.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 3. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 5 mg<br>10 „ „ 5 mg | 1:1000<br>1:2000 | früh totale Häm.<br>„ „ „ | **1:2000** |
| 4. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 50 mg<br>5 „ „ 25 mg<br>5 „ „ 10 mg | 1:100<br>1:200<br>1:500 | in 2 Min. totale Häm.<br>„ 2 „ „ „<br>früh totale Häm. | **1:500** |
| 5. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 20 mg<br>10 „ „ 20 mg | 1:250<br>1:500 | in 2 Min. totale Häm.<br>früh totale Häm. | **1:500** |
| 6. | Schweineblut | 5 cm³ enth. 30 mg<br>5 „ „ 20 mg<br>5 „ „ 10 mg | 1:167<br>1:250<br>1:500 | einig. St. totale Häm.<br>früh totale Häm.<br>„ „ „ | **1:500** |
| 7. | Katzenblut | 5 cm³ enth. 20 mg<br>5 „ „ 10 mg | 1:250<br>1:500 | früh totale Häm.<br>„ „ „ | **1:500** |
| 8. | Serumarmes Pferdeblut | 5 cm³ enth. 30 mg<br>5 „ „ 20 mg<br>5 „ „ 10 mg | 1:167<br>1:250<br>1:500 | früh totale Häm.<br>„ „ „<br>„ „ „ | **1:500** |
| 9. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 20 mg<br>5 „ „ 10 mg | 1:250<br>1:500 | nach 24 St. totale Häm. | **1:500** |

In Worten läßt sich das Ergebnis der bisherigen Untersuchung folgendermaßen ausdrücken.

Im durch Salzsäure nicht fällbaren Teile des alkalischen Dekoktes des Maiblümchenkrautes befindet sich eine Substanz, die aus dem Verdampfungsrückstand des neutralisierten Dekoktfiltrates mittelst Methylalkohol ausgezogen und aus dieser Lösung durch wasserfreien Äther gefällt werden kann. Diese Substanz, sie sei nun einheitlich oder ein Gemisch, schäumt und hat unzweifelhaft hämolytische Wirkungen; sie schließt also sicher ein neutrales Saponin ein, bzw. sie besteht hauptsächlich aus einem solchen. Ob das in dem Dekokte auch mit enthaltene Konvallamarin an dieser Wirkung mit Anteil hat, wird in einem späteren Teile dieser Arbeit erörtert werden. Die Ausbeute an dieser Substanz betrug bei der ersten Darstellung 2,6 %, bei der zweiten sorgfältigeren 4,8 %, enthielt hier aber reichlich anorganische Salze und Zucker. Auf jeden Fall beträgt der wahre Gehalt an dieser Substanz viel weniger als 4,8 %. Die in der obigen

Tabelle enthaltenen Wirkungswertzahlen beziehen sich auf keinen Fall auf chemisch reine Substanz sondern auf das Rohprodukt; der wahre Wirkungswert ist also sicher viel größer als 1:500 für das Blut des Rindes, Meerschweinchens, Schweines, der Katze, des Pferdes und des Hahnes sowie größer als 1:2000 für Hammelblutkörperchen und für das Blut des Menschen und des Kaninchens.

Die Anwesenheit einer saponinartigen Substanz konnte nun außer durch Einwirkung auf Blutkörperchen auch noch durch Einwirkung auf Kaulquappen nachgewiesen werden, da diese Tiere sehr empfindlich gegen Saponine sind. Ich setzte abends einige solche Tierchen, die eine Länge von 2 bis 3 cm hatten, in mehrere Gläser, die je 50 $cm^3$ Brunnenwasser enthielten. Zu einigen wurde unsere Giftlösung, zu den andern entsprechende Mengen physiologischer Kochsalzlösung gesetzt. Es ergab sich, daß alle Kontrolltiere nach 24 Stunden noch lebten, während unsere Substanz in einer Konzentration von 1 : 2500 über Nacht alle Tiere abtötete. Unsere Substanz ist also auch ein spezifisches Kaulquappengift, wie dies alle Saponine sind.

Alle Saponine haben nun weiter nach Kobert die Eigenschaft, daß sie bei vorsichtiger Hydrolyse Sapogenine liefern, die ebenfalls hämolytisch wirken. Dies sollte jetzt für unsere Substanz geprüft werden.

### b) Über das Sapogenin des neutralen Saponins des Handelskrautes.

Der zweite Teil des S. 13 besprochenen Filtrates, des mit ClH gefällten alkalischen Krautdekoktes wird mit 20 $cm^3$ verdünnter Schwefelsäure versetzt und zwei Stunden im Wasserbade zerkocht; dabei scheidet sich nur eine geringe Menge eines in Wasser unlöslichen schwarzbraunen Körpers ab. Dieser muß das Sapogenin des neutralen Saponins der Konvallaria mit enthalten. Ehe ich über seine weitere Reinigung und physiologische Prüfung rede, sei das Filtrat, welches nach dem Zerkochen des Dekoktes erhalten worden war, besprochen. Es muß, falls ein Saponin zerkocht worden ist, den, resp. die Zuckerparlinge enthalten, es können aber nebenbei natürlich auch präformierte Kohlenhydrate vorhanden

sein. Da es stärker als vorher reduzierte, liegt die Wahrscheinlichkeit, daß ein Glykosid gespalten worden ist, vor. Die Pentosenreaktion nach Bial (grüne in Amylenhydrat lösliche Substanz) trat ebenfalls ein. Es handelte sich jetzt noch um den Nachweis einer Substanz aus der Gruppe der Glykuronsäuren. Zu diesem Behufe erfolgt Zerkochen mit konzentrierter Salzsäure und kurzes Erhitzen mit Naphthoresorzin. Dieses ergibt reichliche Abscheidung eines dunklen Pulvers, das auf Asbest gesammelt, mit Wasser gewaschen und in Äther gelöst wird; es liefert eine dunkelbraune Lösung. Diese wird im Schälchen eingedunstet und zum Zweck weiterer Reinigung mit Chloroform ausgezogen. Der in Chloroform unlösliche Teil ist dunkelblau und löst sich in Äther sofort rot. Diese Lösung fluoresziert, wie die Chloroformlösung und zwar sehr stark, ferner gibt sie einen intensiven Absorptionsstreifen im Gelb. Diese Reaktion, welche noch von Blanchard[1]) als eindeutig für die gewöhnliche Glykuronsäure angesprochen worden ist, hatten schon Neuberg und Mandel[2]) als auch für deren Isomeren z. B. für die Aldehydschleimsäure und andere Ketokohlehydratsäuren gültig erkannt. Nach Fertigstellung dieser meiner Arbeit hat dann F. Ehrlich[3]) die ungemein wichtige Entdeckung gemacht, daß die in Pektinstoffen und Pflanzenschleimen stets vorhandene d-Tetragalakturonsäure und deren Derivate, namentlich die Galakturonsäure die genannte Tollenssche Reaktion ebenfalls geben. Ehrlich spricht auch die Saponine als Galakturonparlinge an, nachdem er im Merckschen Saponalbin Galakturonsäure nachgewiesen hat. Ob diese Anschauung für alle Saponine zutrifft, bedarf weiterer Untersuchungen. Hier ist nur zu sagen, daß das neutrale Saponin des Maiblümchenkrautes die Tollenssche Reaktion gibt und daß daher sowohl dieses als das saure Saponin der Zucker- und der Futterrübe jetzt wohl als Galakturonsäureparlinge anzusprechen sind, wofern nicht neben den Saponinen vorhandene Pektinstoffe die Reaktion bedingt haben. Wir werden sehen, daß auch das Verhalten

[1]) O. Blanchard, Über die Saponine der Futterrübe. Diese neuen Beiträge 1, 1916, S. 134.

[2]) C. Neuberg und Mandel, Biochemische Zeitschrift, Bd. 13, 1908, S. 148.

[3]) Felix Ehrlich, Die Pektinstoffe, ihre Konstitution und Bedeutung. Chemiker-Zeitg., Jahrg. 41, 1917, S. 197.

zu freiem Brom zu der Auffassung, daß im Dekokt mindestens ein Saponin vorhanden ist, stimmt.

Der S. 16 erwähnte Niederschlag, der nach zwei Stunden beim Zerkochen des Filtrates mit ClH angesäuerten Drogendekoktes mittelst verdünnter Schwefelsäure entstanden war, mußte das Sapogenin des neutralen Saponins enthalten, falls ein solches vorhanden gewesen war. Er wird nach dem Auswaschen mit Methylalkohol mehrfach ausgekocht und noch heiß filtriert. Der Verdunstungsrückstand dieses Filtrates wird in Essigäther gelöst. Den wohl in Methylalkohol aber nicht in Essigäther löslichen Teil löste ich in Azeton. Beide Lösungen, d. h. die in Essigäther und die in Azeton werden verdunstet und der getrocknete Rückstand gewogen. Äus dem Essigäther erhielt ich nur 0,086 g Substanz. Diese 86 mg Substanz wurden in 8,6 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung unter Zuhilfenahme einiger Tropfen sehr verdünnter Alkalilauge gelöst, mit einer Spur Salzsäure neutralisiert und mit dieser Lösung folgende Blutversuche angesetzt. 1 $cm^3$ = 10 mg Sapogenin. Sämtliche Gläschen werden um 4 Uhr nachmittags angesetzt. Um 6 Uhr sowie früh 10 Uhr wurde abgelesen. Die Gläschen mit 10 mg der Substanz aus dem Essigäther waren schon um 6 Uhr hämolysiert. Der in Essigäther unlöslich gebliebene, aber in Azeton lösliche Teil unserer Substanz wirkte auch hämolytisch, aber schwächer als die Essigätherportion.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen geht dahin, daß unsere zerkochte hämolytische Ausgangssubstanz unzweifelhaft ein echtes Saponin war, denn nur echte Saponine liefern nach dem Zerkochen eine noch hämolytisch wirksame Spaltsubstanz. Ein Aglykon im allereigentlichsten Sinne braucht diese neue Substanz nicht zu sein; sie ist nur ärmer an abspaltbarem Kohlehydrat als die Ausgangssubstanz, also ein sekundäres Glykosid. Kobert nennt derartige Stoffe Anfangssapogenine gegenüber den durch stärkere und längere Hydrolyse erhaltbaren Endsapogeninen, die echte Aglykone aber häufig unlöslich und daher zu hämolytischen Versuchen unbrauchbar sind. Unser Anfangssapogenin wirkt, wie die Tabelle zeigt, noch stärker als seine Muttersubstanz, das neutrale Saponin.

Unser Sapogenin ist in Wasser und in sauren wässerigen Flüssigkeiten unlöslich, wie dies für alle Sapogenine gilt. Es

löst sich in verdünnten Alkalien, in Methylalkohol, Azeton, in verdünntem Äthylalkohol, in heißem Essigester. In Äther ist es sehr wenig löslich, in Chloroform unlöslich. Zu seinem Nachweis lassen sich folgende, für viele Sapogenine und Saponine gültige Farbenreaktionen mit verwenden.

1. Mit Furfurolschwefelsäure färbt es sich rot. Je kleiner die Furfurolmenge genommen wird, desto intensiver und extensiver fällt die Reaktion aus.

2. Mit Benzaldehydschwefelsäure färbt es sich grün.

3. Mit chromsäurehaltigem Eisessig färbt es sich ebenfalls grasgrün. Diese Färbung bleibt sehr lange bestehen (Chromoxydsalz).

**Tabelle II.**

**Übersicht über die hämolytische Wirkung des Sapogenins des neutralen Saponins des Krautes.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | sofort völl. Hämolyse | **1:10000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh „ „ | |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | sofort völl. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 6 mg | 1:833 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ partielle „ | |
| 3. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | sofort völl. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | in 2 St. „ „ | |
| 4. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 2 mg | 1:2500 | früh völlig. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ fast totale „ | |
| 5. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 4 mg | 1:1250 | in 2 St. völl. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| 6. | Schweineblut | 5 cm³ enth. 4 mg | 1:1250 | in 2 St. völl. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| 7. | Serumarmes Pferdeblut | 5 cm³ enth. 4 mg | 1:1250 | in 2 St. völl. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh „ „ | |
| 8. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | früh völlig. Hämolyse | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |

**c) Uber das saure Saponin des Krautes.**

Wir sahen Seite 13, daß in dem alkalischen Dekokte durch ClH eine voluminöse Fällung entstanden war. Dieser, das vermutliche saure Saponin einschließende Niederschlag wird, nachdem er ziemlich trocken geworden ist, in einem Kolben mit Steigrohr fünfmal mit Methylalkohol ausgekocht. Nach dem fünfmaligen Auskochen mit Methylalkohol wurde der Rückstand vorsichtshalber auch noch einmal mit Azeton ausgekocht, die filtrierte Azetonlösung zur Trockene verdampft und in physiologischer Kochsalzlösung mittelst Alkali gelöst. In der Tat zeigten damit angestellte Versuche mit Blut, daß auch noch in diesem Azetonauszug etwas wirksame Substanz, also saures Saponin enthalten war, das totale Hämolyse hervorrief. Die Hauptmenge der wirksamen Substanz mußte aber in den Methylalkohol übergegangen sein. Die vereinigten Filtrate der fünf Auskochungen mit diesem Lösungsmittel wurden völlig zur Trockene eingedampft. Den Rückstand wusch ich mit wasserfreien Äther, bis dieser sich nicht mehr färbte. Die ätherische Lösung, die tief dunkelgrün aussieht, enthält sehr viel Chlorophyll. Mit dem Spektroskop betrachtet, zeigte nämlich die verdünnte ätherische Lösung eine stärkere und eine schwächere Linie im Rot und einen Absorptionsstreifen im Blaugrün. Das an Äther nichts mehr abgebende saure Saponin wurde mit Azeton wiederholt ausgekocht, die Azetonlösung verdampft und der Rückstand gewogen. Diese 65 mg betragende Substanz, welche 50 g Droge entsprach, wurde in physiologischer Kochsalzlösung und einer Spur Alkali gelöst und auf 13 $cm^3$ gebracht. 1 $cm^3$ enthielt demnach 5 mg. Nach genauem Neutralisieren stellte ich mit diesem Azetonauszug des sauren Saponins mittags 1 Uhr folgende Versuche an. Ich bemerke vorher nur noch, daß auch diese Saponinlösung beim Ansäuren einer kleinen Probe sofort voluminös gefällt wurde, wie dies ja leicht zu verstehen ist. (Tabelle III s. S. 21.)

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß der in Azeton lösliche Teil des sauren Saponins des Krautes erhebliche hämolytische Eigenschaften, die für die einzelnen Blutarten zwischen 1:1000 und 1:10000 liegen, besitzt.

Es war jetzt weiter festzustellen, ob auch der in Azeton unlöslichere Teil des mit Äther gereinigten

sauren Saponins hämolytisch wirkt. Seine 50 g Droge entsprechende Menge betrug 1,3 g. Diese wurden in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz einer Spur von freier Natronlauge gelöst und dann mit verdünnter Salzsäure vorsichtig zurückneutralisiert und auf 66,7 $cm^3$ gebracht, von dem jeder $cm^3$ 20 mg saures Saponin enthält. Mit diesem wurden mittags nachstehende Versuche mit Blut angesetzt. (Tabelle IV s. S. 22.)

**Tabelle III.**

**Wirkung des Verdunstungsrückstandes vom Azetonauszug des sauren Saponins des Krautes.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 25 mg | 1:200 | sofort totale Häm. | 1:10000 |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | nach 3 St. totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | früh totale Häm. | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | früh partielle Häm. | |
| 2. | Menschenblut | 5 $cm^3$ enth. 2,5 mg | 1:2000 | sofort totale Häm. | 1:10000 |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | in einig. St. tot. Häm. | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | früh totale Häm. | |
| 3. | Schweineblut | 5 $cm^3$ enth. 2,5 mg | 1:2000 | sofort totale Häm. | 1:10000 |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | in 5 Min. totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | nach 3 St. tolale Häm. | |
| 4. | Serumarmes Pferdeblut | 5 $cm^3$ enth. 2,5 mg | 1:2000 | sofort totale Häm. | 1:10000 |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | früh totale Häm. | |
| 5. | Meerschweinchenblut | 5 $cm^3$ enth. 4 mg | 1:1250 | in 3 Min. totale Häm. | 1:5000 |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:1250 | früh totale Häm. | |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| 6. | Katzenblut | 5 $cm^3$ enth. 4 mg | 1:1250 | früh totale Häm. | 1:2500 |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| 7. | Hahnblut | 5 $cm^3$ enth. 10 mg | 1:500 | früh totale Häm. | 1:1000 |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ „ „ | |

Der Vergleich der beiden Tabellen zeigt, daß bei der Überführung in Azetonlösung die Substanz offenbar noch weiter gereinigt wird, denn die

nicht auf diese Weise gereinigte Portion wirkt schwächer. Azeton ist überhaupt ein gutes Lösungsmittel für Saponine. So wird ja z. B. auch das Kastaniensaponin technisch durch Auskochen mit Azeton gereinigt.

Die Gesamtausbeute an saurem Saponin aus 50 g Droge betrug 1,3 + 0,065 = 2,8 %.

**Tabelle IV.**

**Wirkung des in Azeton unlöslichen Teils des sauren Saponins des Krautes.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | sofort totale Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:2500 | früh totale Häm. | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | sofort totale Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | früh totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| 3. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | früh totale Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| 4. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | sofort totale Häm. | **1:1250** |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh fast totale Häm. | |

Bei einer zweiten Darstellung des sauren Saponins wurde der methylalkoholische Auszug des Säureniederschlages aus dem alkalischen Krautdekokt filtriert, zur Trockene verdampft, der Rückstand wieder mit wenig Methylalkohol aufgenommen, von ausgeschiedenen Salzen abfiltriert, das Filtrat mit wasserfreien Äther gefällt und stark abgekühlt. Der auf gewogenem Filter gesammelte und getrocknete Niederschlag, der 50 g Droge entsprach, wog 0,410 g. Die Ausbeute betrug 0,410 g. Die Ausbeute betrug also diesmal 0,82 %, also viel weniger als das vorigemal. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz alkalisch gelöst und daraus mit Salzsäure wieder ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen nnd in heißem Azeton gelöst. Diese Azetonlösung wird in einer gewogenen Schale verdunstet, getrocknet und gewogen. Es ergaben sich 40 mg gereinigtes, saures Saponin, die in 20 cm³ physiologischer Kochsalzlösung + Alkali gelöst wurden.

Nach dem Neutralisieren enthäli also 1 $cm^3$ 2 mg. Dieses mit Azeton gereinigte, saure Saponin zeigte ebenso starke hämolytische Wirkungen wie das der Tabelle III. Die Reinigung durch nachträgliches Lösen in Azeton ist also für das saure Saponin von Vorteil.

Bei wiederholter Darstellung des sauren Saponins aus der Methylalkohollösung durch Fällen mit Äther kam ich allmählich zu der Erkenntnis, daß die Quantitäten der Ausbeute aus saurem Saponin um so geringer war, je weniger ich den Methylalkohol eingeengt hatte. Ich schloß daraus, daß das saure Saponin im Gegensatz zu dem neutralen in einem Gemisch von Äther und nicht zu wenig Methylalkohol relativ löslich ist. Um diese Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen, dunstete ich das Gemisch von Äther und Methylalkohol, welches ich beim Fällen der Saponine aus neuen hundert Gramm Droge erhalten hatte, und das ich früher achtlos weggegossen hatte, zur Trockene ein. Ich erhielt 3,54 g Rückstand, der mit einigen Tropfen Natronlauge verrührt und dann in destilliertem Wasser gelöst wurde. Er ließ auf Zusatz einiger Tropfen Salzsäure einen Niederschlag ausfällen, der auf dem Filter gewaschen, getrocknet und gewogen wurde. Er betrug 0,269 g. Er wurde mittelst einer Spur Alkali in 13,45 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Da diese Lösung sich als sehr aktiv erwies, wurde sie noch zwanzigfach verdünnt. Mit dieser, die nun im $cm^3$ 1 mg des fraglichen sauren Saponins enthielt, wurden Versuche an Hammelblutkörperchen, an Rinderblut und Hammelblut angestellt.

Die Hammelblutkörperchen wurden bei 1 : 10000 über Nacht völlig gelöst. Das Rinderblut wurde bei 1 : 2000 über Nacht völlig gelöst. Das Hammelblut (also mit Serum) wurde bei 1 : 2000 über Nacht völlig gelöst. Damit ist bewiesen, daß ein Teil des sauren Saponins im Gemisch des Äthers mit Methylalkohol, wofern der Ätherüberschuß nicht sehr groß ist, gelöst bleibt und aus dieser Lösung in sehr reiner aktiver Form gewonnen werden kann. Die Ausbeute betrug im obigen Falle 0,296 %.

Das Filtrat des sauren Saponins aus der Äther-Methylalkohollösung wurde ebenfalls auf seine Wirkung geprüft. Es wirkte ebenfalls hämolytisch aber recht schwach. Die

Hauptmenge des neutralen Saponins des Krautes wird eben offenbar durch Äther aus der Methylalkohollösung leichter ausgefällt als das saure.

Wurde die Fällung des Methylalkoholauszuges mittels Äther ohne Einengung vorgenommen, so kam es vor, daß der Niederschlag überhaupt kein saures Saponin enthielt, sondern nur neutrales. Dies ist nach dem vorher Gesagten leicht verständlich.

Ich lasse nun einige Tierversuche mit dem sauren Saponin folgen, und zwar an Kaulquappen von Fröschen, da diese gegen Saponin sehr empfindlich sind.

Verwendet wurden eine Anzahl frisch eingefangener Kaulquappen von 1,5 bis 2 cm Länge.

Glas I, enthaltend 150 $cm^3$ Brunnenwasser ohne Saponin.

Glas II, enthaltend 100 $cm^3$ Brunnenwasser, in dem 20 mg saures Saponin gelöst sind.

Glas III, enthaltend 150 $cm^3$ Brunnenwasser. in dem 20 mg saures Saponin gelöst sind.

Glas IV$_K$ enthaltend 150 $cm^3$ Brunnenwasser, in dem 10 mg saures Saponin gelöst sind.

In jedes Glas werden 2 Tiere eingesetzt um 11 $^h$ morgens. Am andern Morgen leben nur noch die beiden Tiere im Kontrollglas.

Damit ist bewiesen, daß noch bei einer Verdünnung von 1:15000 das Natriumsalz des sauren Saponins kleine Kaulquappen abtötet.

Von den schon beim neutralen Saponin erwähnten Gruppenreaktionen gibt das saure Saponin des Krautes die folgenden. Konzentrierte Schwefelsäure färbt rot. Unterschichtung mit Furfurolschwefelsäure gibt nach unten hin rosa, nach oben hin grüne Färbung. Chromsäure-Eisessig färbt beim Erwärmen grasgrün.

**d) Uber das Sapogenin des sauren Saponins des Krautes.**

20 $cm^3$ der Lösung des sauren Saponins, entsprechend 400 mg Substanz werden mit 3 $cm^3$ verdünnter Schwefelsäure 2 Stunden im Wasserbade zerkocht, dann abgekühlt, von der jetzt zuckerhaltigen Flüssigkeit wird der Niederschlag durch Filtration getrennt, der Filtrierrückstand mit Wasser gut ausgewaschen und mit 10 $cm^3$ heißem Wasser und zwei Tropfen verdünnter Natronlauge auf dem Filter gelöst. Diese Lösung wird mit physiologischer Kochsalzlösung auf 20 $cm^3$ gebracht und mit verdünnter Salzsäure neutralisiert. So vorbereitet

dient sie zu den Versuchen von Tabelle V. Die Mengenangaben beziehen sich auf die zerkochte Muttersubstanz; das Sapogenin selbst wurde nicht gewogen.

**Tabelle V.**

**Wirkung des Sapogenins des sauren Saponins des Krautes.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh „ „ | |
| 3. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh „ „ | |
| 4. | Serumarmes Pferdeblut | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | „ „ „ | |
| 5. | Schweineblut | 5 cm³ enth. 20 mg | 1:250 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | „ „ „ | |
| 6. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | sofort tot. Hämolyse | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh „ „ | |
| 7. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 60 mg | 1:83 | früh totale Hämolyse | **1:125** |
| | | 5 „ „ 40 mg | 1:125 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | früh fast tot. Hamolyse | |

Wir wir sehen, wirkt das Sapogenin des sauren Saponins des Krautes auf eine Reihe beliebig herausgegriffener Blutarten als Natriumsalz hämolytisch. Die Grenzwerte müssen, falls wir etwa 50 % Ausbeute an Sapogenin rechnen, verdoppelt werden, gehen also bei den meisten Blutarten bis zu 1 : 1000.

Das Filtrat des zerkochten Saponins reduzierte Fehlingsche Lösung, färbte sich beim Kochen mit Bialscher Flüssigkeit dunkelgrün und gab die blaue Naphthoresorzinreaktion der Glykuronsäure in der S. 17 beschriebenen Weise.

Es war also wohl neben einer Hexose eine Glykuronsäure abgespalten. Die Hexose ließ sich auch durch Gärung nachweisen.

Gesamtergebnis dieses Kapitels.

In dem unter den Namen Herba Convallariae majalis in foliis käuflichen Drogenmaterial ließ sich, von dem uns hier nicht interessierenden ebenfalls vorhandenen Herzgift Konvallamarin abgesehen, unzweifelhaft sowohl ein neutrales als ein saures Saponin, beide mit Wasser schäumend und von hämolytischer Wirkung, nachweisen. Beide ließen sich zerkochen und lieferten mir, abgesehen von einem Kohlehydratgemenge (Hexose, Glykuronsäure), je ein Sapogenin, welches ebenfalls wieder hämolytisch wirkte. Diese beiden Sapogenine sind nach der Nomenklatur unseres Institutes wohl noch keine Endsapogenine, da letztere meist ganz unlöslich und daher unwirksam sind. Mir kam es gerade darauf an zu zeigen, daß ein- bis zweistündiges Zerkochen mit Mineralsäure je ein in Alkalien lösliches noch wirksames Produkt liefert. Substanzen, bei denen dies der Fall ist, beweisen eben gerade durch dieses Verhalten, daß sie echte Saponine sind. Auch ihre Wirkung auf Kaulquappen bez. Fische beweist dies.

## 3. Verarbeitung von abgeblühten eigenen Exemplaren des Maiblümchens ohne Knollen.

Eine kleine Menge abgeblühter Maiblümchenexemplare ohne deutliche Knollen wurden von mir einer eingehenden Untersuchung unterzogen.

### a) Über das saure Saponin.

90 g der verblühten getrockneten Maiblümchen aus Blüten, Stengel und Wurzelfasern bestehend, werden fein zerschnitten und zur Gewinnung der Saponinsubstanzen mit der fünffachen Menge destillierten Wassers, dem etwas Alkali hinzugegeben wird, zweimal eine halbe Stunde lang ausgekocht, dann noch heiß durch Leinwand koliert, das Filtrat durch ein Filter filtriert, das saure Saponin mit verdünnter Salzsäure neben anderen Substanzen ausgefällt und nach kurzer Zeit filtriert. Der Niederschlag, der das saure Saponin enthält, wird nach dem Auswaschen in wenig destilliertem Wasser + einigen Tropfen Alkali gelöst und dann das saure

Saponin mit verdünnter Salzsäure zum zweiten Male gefällt. Nach dem Filtrieren wird der Niederschlag ausgewaschen und mehrfach mit heißem Methylalkohol ausgekocht. Die filtrierte, methylalkoholische Lösung wird in einer gewogenen Schale verdunstet, der Rückstand mit Äther mehrfach gewaschen, getrocknet und gewogen. Es ergeben sich 0,080 g, d. h. 0,089 % der Droge. Die in Äther gelöst gebliebene Menge des sauren Saponins wurde in diesem Falle nicht bestimmt. Die Gesamtausbeute wäre natürlich größer ausgefallen. Die 80 mg werden in 8 cm³ physiologischer Kochsalzlösung + 1 Tropfen Alkali gelöst, neutralisiert und zu den in der Tabelle VI enthaltenen Blutversuchen benutzt. Die Aufstellung der Proben erfolgte immer am späten Nachmittag.

**Tabelle VI.**

**Wirkung des sauren Saponins aus den abgeblühten eigenen Exemplaren der knollenlosen Pflanze.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Menschenblut | 10 cm³ enth. 10 mg | 1:1000 | sofort totale Häm. | 1:5000 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | früh partielle Häm. | |
| 2. | Kaninchenblut | 10 cm³ enth. 10 mg | 1:1000 | sofort totale Häm. | 1:5000 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | früh partielle Häm. | |

Also auch noch in abgeblühten Exemplaren der Convallaria majalis wurde ein saures Saponin gefunden, das kräftige hämolytische Wirkungen entfaltete.

**b) Über das Sapogenin des sauren Saponins der abgeblühten Exemplare.**

10 cm³ der 0,1 proz. Lösung des zu den vorstehenden Versuchen benutzten sauren Saponins werden mit verdünnter Schwefelsäure 2 Stunden im Wasserbade zerkocht. Der ent-

standene geringe Niederschlag wird abfiltriert, mit destilliertem Wasser ausgewaschen und die Substanz in physiologischer Kochsalzlösung + 1 Tropfen Alkali gelöst, neutralisiert und wieder auf 10 cm³ gebracht. 1 cm³ entspricht also dem Sapogenin aus 1 mg saurem Saponin. Ich konnte damit nur einen einzigen Versuch anstellen.

Menschenblut.

I. 5 cm³ NaCl+2 Tr. Blut als Kontrolle;
II. 1 „ „ +4 cm³ = 4 mg; nach 30 Min. völlige Hämolyse, also bei 1 : 1250;
III. 2 „ „ +3 „ = 3 „ ; früh völlige Hämolyse, also bei 1 : 1666;
IV. 3 „ „ +2 „ = 2 „ ; früh fast totale Hämolyse;
V. Kontrolle Nr. II.

Bei dem Sapogenin des sauren Saponins liegt also die Grenze für Menschenblut bei 1 : 1666, berechnet auf das Muttersaponin; auf Sapogenin berechnet ist die Wirkung natürlich noch viel stärker.

**c) Über das neutrale Saponin der abgeblühten Exemplare.**

Das S. 26 erwähnte Filtrat der Säurefällung aus der Gesamtsaponinlösung mußte das neutrale Saponin enthalten. Dieses Filtrat wird neutralisiert und zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in einem Kolben mit heißem Methylalkohol wiederholt ausgekocht. Das methyalkoholische Filtrat wird zur Trockne verdampft und der Verdampfungsrückstand mit einer kleinen Menge Methylalkohol aufgenommen. Der nicht in Methylalkohol gelöste Teil der Substanz wird noch mit Äthylalkohol ausgezogen, der Äthylalkohol verdunstet, der Rückstand mit Methylalkohol aufgenommen, filtriert, mit dem schon vorhandenen Methylalkoholauszug vereinigt und das neutrale Saponin aus der Gesamtmenge mit wasserfreiem Äther gefällt. Das neutrale Saponin fällt dabei als schmierige Masse aus. Nach dem Absetzen wird der Äther klar abgegossen, der Niederschlag erwärmt, um den letzten Äther zu entfernen und nun das neutrale Saponin nebst anderen im Niederschlag enthaltenen Substanzen in 20 cm³ physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Es erwies sich noch in Mengen von 1 cm³ wirksam für Menschen- und Kaninchenblut. Ebenso wirkten 2,5 cm³ in 25 cm³ Brunnenwasser auf 2 cm lange Kaulquappen binnen 4 Stunden abtötend.

Damit ist dargetan, daß meine abgeblühten knollenlosen Exemplare des Maiblümchens

außer dem sauren Saponin auch noch ein neutrales enthielten.

**d) Über das Sapogenin des neutralen Saponins aus den abgeblühten eigenen Maiblümchen.**

10 $cm^3$ der zu den eben besprochenen Versuchen benutzten Lösung des neutralen Saponins werden mit verdünnter Schwefelsäure 1 $^1/_2$ Stunden lang zu Sapogenin auf dem Wasserbade zerkocht. Nach dem Kochen wird abgekühlt, filtriert, der Niederschlag ausgewaschen und in 10 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung mit Alkali gelöst. Diese Lösung, gut neutralisiert, wirkte noch in Mengen von 1 $cm^3$ auf Kaninchenblut hämolytisch. Dieses Verhalten spricht dafür, daß die neutrale blutkörperchenlösende Substanz wirklich ein Saponin war.

## 4. Verarbeitung der Knollen des Maiblümchens.

Folgerichtig mußte sich an die Verarbeitung der knollenfreien Exemplare der Convallaria majalis die Untersuchung der Knollen anschließen. Ich habe diese an einigen eigenen Exemplaren ausgeführt, nachdem ich sie einige Zeitlang an der Luft getrocknet hatte.

**a) Über das saure Saponin der Knollen.**

Um aus diesen halbgetrockneten Knollen die Saponine zu extrahieren, werden 31 g davon sehr fein zerschnitten, und mit der vierfachen Menge destillierten Wassers, das mit Natriumhydroxyd alkalisch gemacht worden ist, 30 Minuten ausgekocht. Nach dreimaligem Auskochen und zweimaligem Kolieren durch Leinwand, werden die vereinigten Dekokte zur Trennung des sauren Saponins vom neutralen, d. h. zur Fällung des ersteren mit verdünnter Salzsäure versetzt. Dabei entstand, wie bei der Verarbeitung des Krautes, ein Niederschlag, der das saure Saponin enthalten mußte, während das neutrale im Filtrate zu suchen war. Da jedoch wegen hohen Gehaltes der Knollen an kolloidalen Kohlenhydraten eine Filtration selbst unter Druck nicht zu ermöglichen war, wird das Gemisch unfiltriert mit Methylalkohol dreimal in der Wärme ausgezogen und die filtrierten Auszüge zum Sirup eingeengt, nochmals mit Methylalkohol ausgezogen, filtriert und diese Lösung mit wasserfreiem Äther gefällt. Nachdem

sich der Niederschlag abgesetzt hat, läßt sich der Äther klar abgießen. Der Niederschlag wird konzentriert in destilliertem Wasser gelöst, mit Salzsäure gefällt, die Fällung gewaschen, getrocknet, zum Entfetten mehrere Male mit Äther gewaschen, wieder getrocknet und gewogen. Die Wägung ergab: 0,392 g, die in der Wärme in physiologischer Kochsalzlösung + 1 Tropfen Alkali gelöst werden. Das Ganze wird dann mit physiologischer Kochsalzlösung auf 39,2 $cm^3$ gebracht und genau neutralisiert. 1 $cm^3$ enthält demnach 10 mg saures Saponin der Konvallarienknolle.

Weitere 69 g Knolle werden analog behandelt; sie ergeben 1,389 g Substanz, die ebenfalls in physiologischer Kochsalzlösung und Alkali gelöst werden.

Die Ausbeute betrug aus den 31 g **1,26** % und aus den 69 g **2,01** %. Die Differenz ist wohl darauf zu beziehen, daß ich bei der zweiten Verarbeitung geschickter verfuhr, als bei der ersten.

Um festzustellen, ob die gewonnene Substanz ein saures Saponin ist, wurden beide Substanzen 1 prozentig gelöst, miteinander gemischt und damit die nachstehenden Versuche angestellt.

**Tabelle VII.**

**Wirkung des sauren Saponins der Knolle.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Kaninchenblut | 5 $cm^3$ enth. 100 mg | 1:50 | nach ½ St. tot. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 60 mg | 1:83 | „ ½ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 40 mg | 1:125 | nach 35 Min. tot. Häm. | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | nach 2 St. tot. Häm. | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | „ 6 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | „ 6 „ „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 $cm^3$ enth. 20 mg | 1:250 | nach 7½ St. tot. Häm. | **1:1000** |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh totale Häm. | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | „ „ „ | |
| 3. | Katzenblut | 5 $cm^3$ enth. 40 mg | 1.125 | nach 1 St. tot. Häm. | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ 4 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1:500 | früh totale Häm. | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | früh fast totale Häm. | |

Auch in der Knolle der Convallaria majalis befindet sich also in dem mit Salzsäure fällbaren Teile des alkalischen Dekoktes bzw. in dem Methylalkoholauszug eine Substanz, die aus der eingeengten methylalkoholischen Lösung mit wasserfreiem Äther als Niederschlag erhalten wird und hämolytische Wirkungen hat. Da sie aus ihrer wäßrigen Lösung durch Säuren sofort ausgefällt wird, ist sie als das saure Saponin der Knolle der Convallaria anzusprechen.

**b. Über das Sapogenin des sauren Saponins der Knolle.**

20 $cm^3$ der Lösung des sauren Saponins der Konvallariaknolle, enthaltend 400 mg Substanz, werden mit verdünnter Schwefelsäure 1 Stunde im Wasserbade zerkocht, dann einige Zeit zum Absetzen des Niederschlages stehen gelassen, filtriert, mit Wasser ausgewaschen und das Sapogenin des sauren Saponins in physiologischer Kochsalzlösung + einigen Tropfen sehr verdünnter Natronlauge in der Wärme gelöst, auf 20 cm gebracht und neutralisiert. Damit werden abends zwischen 5 und 6 Uhr einige Versuche angesetzt, über die Tabelle VIII Auskunft gibt. Die Mengenangaben beziehen sich auf das zerkochte Saponin; für Sapogenin ist die Wirkung viel stärker, jedoch wurde seine Menge nicht bestimmt.

**Tabelle VIII.**

**Wirkung des Sapogenins des sauren Saponins der Knolle.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Kaninchenblut | 5 $cm^3$ enth. 60 mg | 1 : 83 | rasch totale Häm. | **1 : 250** |
| | | 5 „ „ 40 mg | 1 : 125 | früh totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1 : 500 | früh fast totale Häm. | |
| 2. | Menschenblut | 5 $cm^3$ enth. 60 mg | 1 : 83 | rasch totale Häm. | **1 : 250** |
| | | 5 „ „ 40 mg | 1 : 125 | früh totale Häm. | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 20 mg | 1 : 500 | früh fast totale Häm. | |

Bei dem Sapogenin des sauren Saponins der Knolle der Convallaria liegt die Grenze der Wirkung auf Kaninchenblut und auf Menschenblut bei 1 : 250, bezogen auf das Mutter-

saponin. Auf Sapogenin umgerechnet, dürfte sich etwa das Doppelte ergeben. Unter allen Umständen liegt also eine hämolytische Substanz vor, die der Art ihrer Darstellung nach als ein Sapogenin des sauren Saponins anzusprechen ist.

### c. Über das neutrale Saponin der Knolle.

Das mit großer Mühe erhaltene Filtrat des HCl-Niederschlages aus dem alkalischen Dekokt von 100 g Knolle, 350 $cm^3$ betragend, enthält vermutlich ein neutrales Saponin. Die 350 $cm^3$ werden in 2 Teile geteilt. Die Verarbeitung des zweiten Teiles folgt weiter unten (S. 33).

Die erste Hälfte von 175 $cm^3$ wurde neutralisiert, zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit Methylalkohol dreimal ausgekocht. Die filtrierte Lösung wird konzentriert und durch wasserfreien Äther das neutrale Saponin gefällt und getrocknet. Es ergeben sich 8,923 g, die in 90 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden. Nach dem Neutralisieren enthält 1 $cm^3$ = 100 mg der gefällten Substanzen und darin vermutlich auch das neutrale Saponin aus 0,56 g Knolle. Einige Blutversuche mit dieser Substanz enthält Tab. IX. Wenn ich die durch den Äther mitgefällten fremden Substanzen (Salze, Zucker usw.) hätte abziehen können, würde die Wirkungsstärke natürlich viel erheblicher sein. Alle Gläschen wurden abends aufgestellt.

**Tabelle IX.**

**Wirkung des neutralen Saponins der Knolle.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Meerschweinchenblut | 5 $cm^3$ enth. 200 mg | 1:25 | früh totale Hämolyse | **1:200** |
| | | 5 „ „ 100 mg | 1:50 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 100 mg | 1:100 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 50 mg | 1:200 | „ „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 $cm^3$ enth. 300 mg | 1:16 | früh totale Hämolyse | **1:100** |
| | | 5 „ „ 200 mg | 1:25 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 100 mg | 1:50 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 100 mg | 1:100 | „ „ „ | |

**Tabelle IX.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 3. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 300 mg | 1 : 16 | früh totale Hämolyse | **1:100** |
| | | 5 „ „ 200 mg | 1 : 25 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 100 mg | 1 : 50 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 100 mg | 1 : 100 | „ „ „ | |
| 4. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 100 mg | 1 : 50 | früh totale Hämolyse | **1:100** |
| | | 10 „ „ 100 mg | 1 : 100 | „ „ „ | |

In der Knolle der Convallaria majalis wurde also nach dem vorangegangenen beschriebenen Verfahren außer dem sauren auch ein neutrales Saponin gefunden, d. h. eine auf Säurezusatz nicht ausfallende Substanz von hämolytischen Wirkungen. Daß diese Substanz nicht Konvallamarin sein kann, wird das folgende zeigen.

**d) Über das Sapogenin des neutralen Saponins der Knolle.**

Der zweite Teil des auf S. 32 besprochenen Filtrates von 175 cm³ wird mit verdünnter Schwefelsäure zwei Stunden im Wasserbade zerkocht, wobei eine merkliche Fällung eintritt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag, also das vermutliche Sapogenin des neutralen Saponins, durch ein gewogenes Filter filtriert. Der Filterrückstand wird ausgewaschen und in heißem Essigäther gelöst, in eine gewogene Schale filtriert, verdunstet, getrocknet und gewogen. Es ergeben sich 0, 173 g Substanz. Diese wird in 17,3 cm³ physiologischer Kochsalzlösung mittels Alkali gelöst, neutralisiert und zu den Versuchen der Tab. X benutzt. Die darin angegebenen Dosen beziehen sich hier auf das Sapogenin selbst, also nicht auf die Muttersubstanz.

**Tabelle X.**

**Wirkung des Sapogenins des neutralen Saponins der Knolle.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 30 mg | 1:166 | nach 15 Min. tot. Häm. | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ 4½ St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | früh totale Hämolyse | |

**Tabelle X.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 2. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 30 mg | 1:166 | nach 10 Min. tot. Häm. | **1:500** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ 1½ St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | früh totale Hämolyse | |

Aus dem neutralen Saponin war, wie die Tabelle zeigt, ein hämolytisch wirkendes Sapogenin, das für Kaninchenblut und Menschenblut noch bei 500facher Verdünnung völlig lösend wirkte, geworden.

Um den Einwand zu widerlegen, daß die neutrale hämolytische Substanz lediglich das Herzgift Konvallamarin ist, mußte versucht werden, Konvallamarin und neutrales Saponin zu trennen. Da die sämtlichen Stoffe der Digitalingruppe durch Tannin gefällt werden können, die neutralen Saponine aber nicht, wurde ein Quantum eingeengter Lösung des neutralen Saponins mittels Tannin ausgefällt, das Filtrat mittels neutralem Bleiazetat vom Gerbstoff befreit und von neuem geprüft. Es wirkte hämolytisch und gab beim Zerkochen ein hämolytisch wirkendes Sapogenin. Das neutrale Saponin ist also danach mit dem Konvallamarin nicht identisch. Ich komme auf das Verhalten zu Gerbsäure weiter unten nochmals zu sprechen.

Gesamtergebnis dieses Abschnittes.

Die Untersuchung der Knolle der Convallaria majalis ergab sowohl ein saures als ein neutrales Saponin. Aus beiden ließ sich durch Hydrolyse je ein Sapogenin gewinnen. Allen vier Substanzen kommt hämolytische Wirkung zu.

## 5. Verarbeitung der Flores Convallariae majalis.

Nach der Untersuchung des Krautes, der abgeblühten Exemplare und der Knolle mußte es von Wert sein, auch die Flores in gleicher Weise zu untersuchen.

### a) Über das saure Saponin der Flores.

50 g der Flores, bezogen von der Firma Caesar & Loretz in Halle a. S. werden zur Erlangung der darin enthaltenen Saponine mit der vierfachen Menge destillierten Wassers unter Zusatz von Natriumkarbonat bis zur schwachen alkalischen Reaktion zweimal 30 Minuten gekocht. Nach dem Kolieren der noch heißen Flüssigkeit durch Leinwand werden die vereinigten Dekokte noch einmal filtriert. Das jetzt klar erhaltene Filtrat wird, um das saure Saponin von dem neutralen zu trennen, tropfenweis mit verdünnter Salzsäure versetzt. Der das saure Saponin einschließende Niederschlag wird gut mit destilliertem Wasser gewaschen, getrocknet, in einen Kolben mit Steigrohr gebracht und mit Methylalkohol dreimal ausgekocht. Die heiß filtrierte, methylalkoholische Lösung wird auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und der Rückstand in zwei Teile geteilt. Der eine Teil des Rückstandes wird mit Alkohol aufgenommen, von unlöslichen Substanzen abfiltriert und mit Äther gefällt. Der Niederschlag wird in 10 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung gelöst und neutralisiert. Nachdem ein Probeversuch gezeigt hatte, daß diese Flüssigkeit auf Hammelblutkörperchen hämolytisch wirkt, wird der Rest derselben mit verdünnter Salzsäure gefällt. Es entsteht ein dicker Niederschlag; dieser wird abfiltriert, gewaschen und in physiologischer Kochsalzlösung mit Alkali gelöst, neutralisiert und zu Blutversuchen benutzt. Diese Lösung wirkt auf Hammelblutkörperchen und auf Menschenblut schon in kleinen Mengen rasch hämolytisch. Daraufhin wird der Rest der Flüssigkeit nochmals mit Salzsäure ausgefällt, auf dem Filter gewaschen, getrocknet, in heißem Methylalkohol konzentriert gelöst und mit Äther gefällt. Der Äther wird abgegossen, die zurückgebliebene Substanz nochmals in Alkohol gelöst, die Lösung verdunstet und nach dem Trocknen die Substanz gewogen. Es ergeben sich 0,388 g saures Saponin. Diese werden, nachdem sie nochmals mit Essigäther ausgezogen worden sind, in 38,8 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung und 1 Tropfen Alkali einprozentig gelöst und neutralisiert. Der Essigätherauszug hinterließ beim Verdunsten nichts. Damit ist bewiesen, daß kein präformiertes Sapogenin vorhanden war, denn dieses würde in Essigäther sich gelöst haben. Unsere Substanz ist also lediglich als saures Saponin anzusprechen.

**Tabelle XI.**

**Wirkung des sauren Saponins der Flores.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | n.wenig.Min.tot.Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | n.wenig.Min.tot.Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | nach 1 St. tot. Häm. | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | früh nur partiell.Häm. | |
| 3. | Katzenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | sofort tot. Hämolyse | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | n.wenig.Min.tot.Häm. | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | nach 1¼ St. tot. Häm. | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |

Die Grenze der hämolytischen Wirkung des sauren Saponins der Flores Convallariae für Hammelblutkörperchen, Menschenblut und Katzenblut liegt also bei 1:5000. Wir haben solches saures Saponin im Kraut, in den Knollen und in den Blüten nachzuweisen vermocht; es scheint somit in der ganzen Pflanze vorhanden zu sein.

**b) Über das Sapogenin des sauren Saponins der Flores Convallariae.**

20 cm³, enthaltend 200 mg des sauren Saponins der Blüten werden mit verdünnter Schwefelsäure 2 Stunden im Wasserbade gekocht. Nach dem Abkühlen wird filtriert. Das Filtrat wirkt jetzt schon in kleiner Menge stark reduzierend auf Fehlingsche Lösung, während vor dem Kochen die Flüssigkeit frei von reduzierenden Stoffen war. Es hat also eine hydrolytische Zerlegung stattgefunden. Das auf dem Filter befindliche Sapogenin wird gewaschen und in heißem Essigäther gelöst. Nach dem Verdunsten des Essigäthers wird es in 20 cm³ physiologischer Kochsalzlösung + 1 Tropfen Alkali

in der Wärme gelöst und neutralisiert. 1 $cm^3$ entspricht dem Sapogenin aus 10 mg zerlegtem saurem Saponin. Die hämolytische Wirkung dieses Sapogenins wurde durch die nachmittags 4 Uhr aufgestellten Blutversuche der Tabelle XII festgestellt.

**Tabelle XII.**

**Wirkung des Sapogenins des sauren Saponins der Flores.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 10 mg | 1:500 | sofort tot. Hämolyse | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | nach 50 Min. tot. „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ nur part. „ | |
| 2. | Katzenblut | 5 $cm^3$ enth. 3 mg | 1:1666 | nach ½ St. tot. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 1½ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | früh „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ fast „ „ | |

Wie die Tabelle zeigt, ist die hämolysierende Kraft unseres Sapogenins beträchtlich, da die gewonnenen Werte ja auf das saure Saponin berechnet sind; für das Sapogenin selbst dürfte sich etwa das Doppelte, also 1:10000 ergeben.

**c) Über das neutrale Saponin der Flores Convallariae.**

Das Filtrat vom Seite 35 erwähnten HCl-Niederschlag, das das neutrale Saponin enthält, wird neutralisiert, eingeengt und zu Blutversuchen verwandt. Es wirkt auf Hammelblutkörperchen und auf Menschenblut hämolysierend.

**d) Über das Sapogenin des neutralen Saponins.**

Ein Teil des neutralen Saponins wird nach dem Einengen mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, wobei keine Fällung eintritt. Dadurch ist bewiesen, daß kein saures Saponin und kein Sapogenin anwesend ist. Nun wird die klare Lösung 2 Stunden lang auf dem Wasserbade zerkocht, wobei sich ein Niederschlag bildet; dieser wird abfiltriert und gewaschen. Er stellt das Sapogenin des neutralen Saponins

vor; er wird mit 15 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung und etwas Alkali in Lösung gebracht. Er zeigt hämolytische Wirkung auf Hammelblutkörperchen und auf Menschenblut. Damit ist seine Sapogeninnatur dargetan und gleichzeitig bewiesen, daß vor dem Zerkochen ein neutrales Saponin vorhanden war.

Da nach Kobert alle Saponine und Sapogenine durch Bromierung ihre hämolytische Wirkung verlieren, mußte dies auch bei der in Rede stehenden Substanz der Fall sein. Ich versetzte eine kleine Quantität der zu den vorstehenden Versuchen benutzten Lösung des Sapogenins des neutralen Saponins mit Bromwasser kubikzentimeterweis, bis Brom nicht mehr absorbiert wurde, erwärmte dann und fällte das bromierte Sapogenin aus. Nach dem Auswaschen löste ich es in alkalischer Kochsalzlösung und probierte in doppelter Dosis als vorher seine Wirkung auf Hammelblutkörperchen und Menschenblut. Eine hämolytische Wirkung trat überhaupt nicht ein. Auch dies Verhalten stimmt dazu, daß es sich um eine Saponinsubstanz bzw. ein Sapogenin handelt.

Gesamtergebnis dieses Abschnittes.

Die Convallaria majalis weist wie in allen bisher untersuchten Teilen so auch in den Blüten Saponine (ein saures und ein neutrales) auf, und aus diesen konnte je ein Sapogenin dargestellt werden, die noch alle hämolytischen Wirkungen der Muttersubstanz besaßen, während Brom bei einer dieser Substanzen, die probeweis bromiert wurde, die hämolytische Wirkung aufhob.

## 5. Verarbeitung von Fructus Convallariae majalis.

Nachdem alle übrigen Teile der Convallaria von mir analysiert worden waren, unterzog ich schließlich auch die Beeren der Pflanze einer analogen Untersuchung. Ich benutzte Exemplare, die einer Schweriner Gärtnerei entstammten und mir frisch gesandt worden waren. Beim Trocknen wurden aus 64 g allmählich 30 g.

### a) Über das neutrale Saponin der Früchte.

Zur ersten Verarbeitung wurden von den 30 g getrockneten Früchten nur 10 g verwandt. Diese wurden fein zerschnitten und zur Extrahierung der Saponine mit Umgehung

der wäßrigen Auskochung gleich zweimal mit Methylalkohol je 20 Minuten lang ausgekocht. Nach dem Filtrieren schied sich aus dem Gemisch der beiden klaren Flüssigkeiten beim Stehen in der Kälte ein weißer, flockiger Körper ab. Er erwies sich als unwirksam. Die vom Methylalkohol abgepreßten Früchte wurden dann noch mit alkalischem Wasser abgekocht, die Abkochung eingedampft und der Rückstand mit heißem Methylalkohol ausgezogen. Dieser Auszug wurde mit dem vorigen vermischt, auf dem Dampfbade eingeengt und mit Äther gefällt. Die durch Fällung mit Äther gewonnene Substanz setzte sich als Gallerte am Boden des Gefäßes ab, so daß der Äther klar abgegossen werden konnte. Es wurde versucht, diese Substanz in wenig heißem Alkohol zu lösen; dabei löste sich aber nur ein kleiner Teil; den Rest brachte ich mit heißem Methylalkohol zur Lösung. Die alkoholische und die methylalkoholische Lösung wurde verdunstet. Der Rückstand aus dem Alkohol wog 0,123 g und der aus dem Methylalkohol 0,823 g. Beide wurden in physiologischer Kochsalzlösung unter Zugabe einer Spur Natronlauge gelöst und die Lösungen genau neutralisiert. Beide erwiesen sich als wirksam auf Hammelblutkörperchen, Menschenblut und Kaninchenblut, aber die aus dem Alkohol gewonnene Substanz wirkte viel stärker als die andere.

Dadurch ist bewiesen, daß aus dem methylalkoholischen Auszug der Maiblümchenbeeren durch Fällung mit Äther eine Substanz oder ein Substanzgemisch erhalten wird, das hämolytische Wirkungen und also wohl Saponincharakter besitzt.

Um zu prüfen, ob die beiden Saponinlösungen zwei wirksame Bestandteile, d. h. ein neutrales und ein saures Saponin, enthalten, versetzte ich je 1 $cm^3$ der Lösung der aus dem Alkohol und der aus dem Methylalkohol gewonnenen Substanz mit 1 Tropfen verdünnter Salzsäure zum Zweck der Fällung des sauren Saponins. Jedoch entstand bei beiden Lösungen keine Fällung. Mithin kann in diesen Lösungen nur ein neutrales Saponin vorhanden sein. Es wäre aber fehlerhaft daraus schließen zu wollen, daß auch in den Früchten kein saures Saponin vorhanden ist. Es stellte sich nämlich heraus, daß das saure Saponin bei der Fällung der methylalkoholischen Lösung mit Äther von dem Äther aufgenommen wurde. In

der Tat ließ es sich durch Verdunsten des Äthers gewinnen. Ich verweise auf die entsprechenden Angaben auf S. 41.

**b) Über das Sapogenin des neutralen Saponins.**

35 $cm^3$ der einen Lösung des neutralen Saponins zu je 20 mg werden mit 7 Tropfen verdünnter Schwefelsäure versetzt und 1 Stunde im Wasserbade gekocht. Nach dem Abkühlen der Flüssigkeit wird der entstandene dunkelbraune Niederschlag abfiltriert, mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen und in 7 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung in der Wärme gelöst und neutralisiert. 1 $cm^3$ entspricht also dem Sapogenin aus 100 mg Saponin und zwar dem weniger wirksamen, welches in Alkohol unlöslich war. Es wurden nun einige Blutversuche angestellt.

**Tabelle XIII.**

**Wirkung des Sapogenins des neutralen Saponins der Maiblümchenbeeren.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 100 mg | 1 : 50 | nach 2 Min. völl. Häm. | **1 : 500** |
| | | 10 „ „ 100 mg | 1 : 100 | „ 5 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | nach 35 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1 : 500 | n. 1 St. 50 Min. „ „ | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1 : 1000 | nach 14 St. part. Häm. | |
| 2. | Menschenblut | 10 $cm^3$ enth. 100 mg | 1 : 100 | n. 1 St. 15 Min. völl. Häm. | **1 : 250** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | nach 14 St. part. Häm. | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1 : 500 | „ 14 „ „ „ | |
| 3. | Hammelblut | 10 $cm^3$ enth. 100 mg | 1 : 100 | nach 4 St. völl. Häm. | **1 : 100** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | n. 14 St. fast „ „ | |
| 4. | Rinderblut | 10 $cm^3$ enth. 100 mg | 1 : 100 | nach 4 St. völl. Häm. | **1 : 100** |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1 : 250 | „ 14 „ part. „ | |

Da das Saponin aus der Methylalkoholfällung relativ unrein war, dürften die Zahlen der Wirksamkeit auf Sapogenin umgerechnet wohl mehr als doppelt so groß ausfallen als in der Tabelle. Auf jeden Fall ist bewiesen, daß das neutrale Beerensaponin ein wirksames Sapogenin liefert.

### c) Ueber das saure Saponin der Früchte.

Um das saure Saponin zu gewinnen, werden 20 g Früchte sehr fein zerschnitten und dreimal mit der etwa dreifachen Menge destillierten Wassers + einigen Tropfen Natriumkarbonat $^1/_2$ Stunde im Wasserbade gekocht. Nach dem Filtrieren werden die vereinigten Dekokte auf dem Dampfbade zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mehrfach mit Methylalkohol ausgezogen. Das methylalkoholische Filtrat wird mit Äther gefällt und zum Absetzen des entstandenen gallertigen Niederschlages einige Stunden auf Eis gestellt; nach dieser Zeit kann der Äther klar abgegossen werden. Der gelblich gefärbte Äther, auf den es uns nach dem S. 40 Gesagten hier ankommen mußte, wurde in einer Schale verdunstet, von dem dunkelbraunen Rückstand eine kleine Probe in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, neutralisiert und einige Vorversuche angesetzt.

Diese ergaben also, daß die aus dem Äther gewonnene Substanz für Hammelblutkörperchen und für Menschenblut hämolytische Wirkungen besitzt. Aus diesem Grunde wurde der Rest der beim Verdunsten des Äthers erhaltenen Substanz zur Reinigung in wenig Alkohol heiß gelöst, der Alkohol verdunstet, der Rückstand getrocknet und gewogen. Es ergaben sich 2,27 g Substanz, die, wie sich später zeigte, im wesentlichen ein Gemisch von wenig neutralem mit relativ viel saurem Saponin enthielt. Die 2,27 g wurden in 56,8 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung alkalisch gelöst, neutralisiert und auf ihre hämolytische Wirkung hin geprüft.

**Tabelle XIV.**

**Wirkung der in Methylalkohol-Äther löslichen Saponinsubstanzen der Maiblümchenbeeren.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 40 mg | 1:125 | sofort völl. Häm. | 1:7000 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | nach 1 Min. völl. Häm. | |
| | | 9 „ „ 4 mg | 1:2500 | „ 3 „ „ „ | |
| | | 9 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ 4¾ St. „ „ | |
| | | 6 „ „ 1 mg | 1:6000 | „ 8 „ „ „ | |
| | | 7 „ „ 1 mg | 1:7000 | „ 14 „ „ „ | |
| | | 8 „ „ 1 mg | 1:8000 | n. 14 St. fast „ „ | |

**Tabelle XIV.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blut-präparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 4 mg | 1:1250 | nach 1 Min. völl. Häm. | **1:7000** |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ 14 St. „ „ | |
| | | 6 „ „ 1 mg | 1:6000 | „ 14 „ „ „ | |
| | | 7 „ „ 1 mg | 1:7000 | „ 14 „ „ „ | |
| | | 8 „ „ 1 mg | 1:8000 | n. 14 St. fast „ „ | |
| 3. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 2 mg | 1:2500 | nach 1 St. völl. Häm. | **1:5000** |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ 14 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:6000 | n. 14 St. fast „ „ | |

Wie die Tabelle zeigt, wirkt das Gemisch der aus der Methylalkohol-Äther-Lösung erhaltenen Substanzen der Beeren erheblich hämolysierend.

Es kam nun darauf an, falls beide Saponine darin enthalten sein sollten, diese zu trennen. Dies geschah durch einige Tropfen Salzsäure, die zu dem Rest der zu den Blutversuchen benutzten Lösung zugesetzt wurden. Dabei entstand ein reichlicher, gelber Niederschlag. Dieser wird auf einem gewogenen Filter gesammelt, so lange mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagiert, dann getrocknet und gewogen. Es ergaben sich 0,088 g saures Saponin. Diese werden in 17,6 cm³ physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz eines Tropfens Alkali gelöst und neutralisiert.

Wie die Tabelle XV (s. S. 43) zeigt, wirkt der saure Anteil der im Gemisch von Methylalkohol und Äther löslich bleibenden Saponine, also das saure Fruchtsaponin, ungemein stark; es übertrifft an hämolytischer Kraft alle bisher von mir untersuchten Substanzen.

## Tabelle XV.

**Wirkung des aus der Methylalkohol-Äther-Lösung gewonnenen sauren Saponins der Früchte.**

| Lfd. Nr. | Blut-präparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | sofort völlige Häm. | 1:25000 |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | nach 1 Min. völl. Häm. | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | „ 1 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 3 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ 16 „ fast „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | sofort völlige Häm. | 1:20000 |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | nach 2 Min. völl. Häm. | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | „ 16 St. „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,25 mg | 1:40000 | „ 16 „ partiell. „ | |
| 3. | Rinderblut | 5 cm² enth. 1 mg | 1:5000 | sofort völlige Häm. | 1:20000 |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | nach 3 Min. völl. Häm. | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | „ 16 St. „ „ | |
| 4. | Hammelblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | sofort völlige Häm. | 1:20000 |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | nach 3 Min. völl. „ | |
| | | 10 „ „ 0,25 mg | 1:40000 | n. 16 St. fast völl. „ | |

Ehe ich zur Besprechung des Sapogenins unseres sauren Saponins übergehe, lasse ich einige Tierversuche, teils mit dem Saponingemisch der Beeren, teils mit dem sauren Saponin allein folgen. Diese sollten darüber orientieren, ob unsere Substanzen den für Konvallamarin charakteristischen Herzstillstand hervorrufen, und wie giftig sie eigentlich sind. Ich beginne mit den Versuchen über das Gemisch.

### Versuch I.

10. Febr. 1916. Eine Rana esculenta erhält 10.10 Uhr 40 mg Gesamtsaponine (aus Äther-Methylalkoholauszug) in den Rückenlymphsack. Auffallende Reizerscheinungen treten nicht ein; das Tier wird stiller, träger und allmählich reaktionslos. 3 Uhr. Tier ist gestorben. Gewicht = 25 g. Das Verhältnis des Giftes zum Tiergewicht beträgt 40 : 25 000 = 1 : 625.

Sektion: Herz nicht in Systole. Folglich kann der Tod nicht auf beigemischtes Konvallamarin bezogen werden.

Versuch II.

11. Febr. 1916. Eine Rana esculenta erhält 11,15 Uhr 10 mg Gesamtsaponine (aus Äther-Methylalkoholauszug) in den Rückenlymphsack.

12. Febr. 1916. Der Frosch ist und bleibt gesund. Gewicht = 30 g.

Eine Dosis von 10 mg der Gesamtsaponine auf 30 g Körpergewicht d. h. 1 : 3000 ruft bei Kaltblütern keinerlei Wirkung mehr hervor, während Konvallamarin noch letal wirken würde. Folglich ist unser Saponingemisch im Vergleich zum Konvallamarin bei subkutaner Einspritzung für Frösche relativ wenig giftig.

Versuch III.

10. Febr. 1916. Ein Meerschweinchen von 300 g erhält 11,05 Uhr 120 g Gesamtsaponine (aus Äther-Methylalkoholauszug) subkutan. Das Tier fällt schon einige Minuten nach der Injektion hin und wieder auf die Seite, hat Atemnot und bewegt die Hinterbeine nicht mehr ordentlich. 11,10 Uhr hat es in den Hinterbeinen Zuckungen. 11,16 Uhr. Die Atmung setzt aus, das Tier stirbt.

Sektion: Ergibt keine Systole des Herzens und keine für die Substanzen der Digitalingruppe charakteristischen Blutaustritte. Der Tod ist also nicht durch Konvallamarin erfolgt. Das Blut ist nicht hämolytisch verändert; eine Erklärung des Todes durch ausgedehnte Blutzersetzung ist also ebenfalls nicht angängig: Bei 1 : 2500 wirkt unser Saponingemisch auf Meerschweinchen rasch zentral lähmend.

Versuch IV.

11. Febr. 1916. Ein Meerschweinchen von 300 g erhält 11,20 Uhr 40 mg Gesamtsaponine (aus Äther-Methylalkoholauszug) subkutan. Nach 10 Minuten tritt Atemnot ein. Das Tier legt sich auf die Seite. Krämpfe treten nicht auf. 11,50 Uhr: Tier wie chloroformiert; Atmung und Herzschlag schwach. 12,15 Uhr: Der Tod ist eben eingetreten.

Sektion: Das Herz nicht in Systole; das Blut normal; nirgends Blutaustritte. Die Giftmenge betrug 1 : 7500 des Körpergewichtes.

Diese Versuche zeigen, daß das Gemisch unserer Saponine bei großen Dosen Frösche und Meerschweinchen tötet, aber keine groben anatomischen Veränderungen hervorruft. Konvallamarin wirkt durchaus anders.

Ich lasse noch einige Versuche an Tieren mit dem gereinigten, für Blut so überaus wirksamen reinen sauren Saponin folgen. Tierversuche mit dem ganz reinen neutralen Saponin werden erst weiter unten mitgeteilt werden.

Versuch V.

11. Febr. 1916. Eine Rana esculenta von 31 g erhält 11,27 Uhr 10 mg saures Saponin in den Rückenlymphsack subkutan. Es erfolgen weder Krämpfe noch sonstige Veränderungen. 1,30 Uhr: Tier scheinbar noch normal. 3,30 Uhr: Tier tot vorgefunden.

Sektion: Herz in Diastole, ist mechanisch noch reizbar.

Bei einer Dosis von 10 mg, d. h. bei 1:3100, hat das saure Saponin, in dem der Darstellung nach keine Spur von Konvallamarin enthalten sein konnte, noch tödlich gewirkt. Es wirkte zentral lähmend. Die Erregbarkeit der peripheren Nerven war erhalten. Eine Ähnlichkeit in der Wirkung mit der des Konvallamarins besteht nicht.

Versuch VI.

14. Febr. 1916. Ein Meerschweinchen von 300 g erhält 11.45 Uhr 15 mg saures Saponin subkutan. 12.45 Uhr: Tier ist noch gesund und bleibt so den Tag über. 15. Febr. 1916: Das Tier ist normal; es erhält daher diesmal um 11 Uhr 20 mg saures Saponin subkutan. 12 Uhr: Tier noch gesund und bleibt so den Tag über, sowie am 16—20. Febr. Die Untersuchung des Harns ergab während dieser Zeit weder Hämoglobin, noch Eiweiß, noch Zucker.

Bei Subkutaneinspritzung unseres sauren Saponins in Mengen bis zu 1:20000 des Körpergewichtes blieb das Meerschweinchen noch normal. Hätte das Mittel Konvallamarinwirkungen, so wäre das Tier natürlich nicht nur an dieser Dosis, sondern auch schon an einer viel kleineren rasch gestorben.

Das gereinigte saure Saponin der Früchte von Convallaria majalis besitzt trotz sehr erheblicher Wirkung auf Blutkörperchen im Reagensglas für Warmblüter bei Einspritzung unter die Haut in kleinen Dosen keine der auffallenden Gifterscheinungen, die dem Konvallamarin zukommen. Nur die Einstichstelle wird schmerzhaft. Bei großen Dosen wirkt es zentral lähmend.

Über das durch Zerkochen des sauren Saponins entstehende Sapogenin bemerke ich nur kurz, daß es auf Blut ebenfalls hämolytisch wirkt.

Das Filtrat, das nach Abtrennung des sauren Saponins aus dem Methylalkohol-Äthergemisch erhalten wurde, war noch darauf zu prüfen, ob es neutrales, im Gemisch von Methylalkohol und Äther spurweise in Lösung gebliebenes Saponin enthielt. Es wurde neutralisiert und berechnet, wieviel Substanz es enthielt. Für die Versuche ist dieses als neutrales Saponin gerechnet; es war aber natürlich neben diesem noch eine gewisse Menge fremder Stoffe vorhanden. Es ergab sich, daß dieses fragliche neutrale Saponin in der

Tat hämolytische Wirkungen besitzt. Bei Hammelblutkörperchen war die Grenze 1:790, bei Menschenblut 1:625, bei Hammelblut 1:313 und bei Rinderblut 1:313.

Gesamtergebnis dieses Abschnittes.

Nach dem Verdunsten der Auskochung der Früchte mit destilliertem Wasser und einigen Tropfen Alkali wurde der Verdampfungsrückstand mehrfach mit Methylalkohol ausgezogen und diese Lösung mit wenig Äther versetzt. Dabei stellte sich heraus, daß bei Zusatz von wenig Äther hauptsächlich schwarze Verunreinigungen aus der Methylalkohollösung ausfielen, von den Saponinen aber das saure völlig und das neutrale wenigstens zum Teil in dem Gemisch von Methylalkohol mit Äther gelöst blieben und durch Verdunsten daraus relativ rein erhalten werden konnten.

Nach Untersuchung auch der Früchte von Convallaria majalis kann ich meine Angaben in den vorhergehenden Teilen dahin erweitern, daß die Pflanze in Blüten, Blättern, Stengeln, Wurzelfasern, Knollen und Früchten, d. h. also in allen Teilen ein saures und ein neutrales Saponin enthält, nämlich Konvallarinsäure und neutrales Konvallarin.

## 7. Untersuchung des Merckschen Handelspräparates „Konvallarin".

Dieses Präparat ist ein ansehnliches weißgelbes Pulver. Es wurde uns von der Firma gratis geliefert, wofür wir hierdurch bestens danken.

### a) Zerlegung des Präparates in drei Substanzen.

Nachdem ich alle Teile der Pflanze untersucht hatte, unterzog ich auch das Mercksche Präparat „Konvallarin" einer eingehenden Untersuchung. Da es sich als ein Gemisch erwies, muß ich zunächst über die Bezeichnung der Komponenten reden. Es wurden drei Substanzen gefunden, von denen zwei durch Ansäuern ausgefällt werden konnten, die dritte aber nicht. Diese letztere entspricht der von mir im Vorstehenden meist als neutrales Saponin der Convallaria bezeichneten Substanz. Sie ist von jetzt ab nur noch als neutrales Konvallarin zu benennen. Sie ist ein neues

Glied der Reihe der neutralen Saponine; wie diese alle ist sie glykosidischer Natur. Von den beiden in saurem Wasser unlöslichen Stoffen erwies sich der eine ebenfalls als Glykosid und dürfte, da er Saponineigenschaften hat, als eine Saponinsäure und zwar als Konvallarinsäure zu bezeichnen sein. Der zweite spaltete bei einstündigem Zerkochen nur noch wenig Zucker ab und erwies sich als sekundäres Glykosid, d. h. im Sinne Koberts als ein sogenanntes präformiertes Anfangssapogenin.

Erste Zerlegung von Merckschem Konvallarin.

100 cm³ der 2 proz. Suspension in dest. Wasser werden trotz Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Natronlauge auch nach achttägigem Stehen nicht klar, sondern lassen einen voluminösen Niederschlag sich abscheiden, der beim Stehen zu einer festen glasigen Gallerte erstarrt.

62 cm³ der über der Gallerte stehenden alkalischen Flüssigkeit des 2 proz. Merckschen Konvallarins werden durch Zusatz einiger Tropfen verdünnter Salzsäure angesäuert und dabei voluminös gefällt. Dieser Niederschlag wird durch ein gewogenes Filter filtriert, gut ausgewaschen, getrocknet, gewogen und zu Blutversuchen benutzt, welche zeigen, daß es sich um ein saures Saponin, also um unsere Konvallarinsäure handelt.

Das Filtrat vom Salzsäureniederschlag wird neutralisiert und und festgestellt, daß es ein neutrales Glykosid von hämolytischen Wirkungen enthält, nämlich unser neutrales Konvallarin.

Die Gallerte wird, nachdem sie von der klaren Flüssigkeit getrennt worden ist, mit Essigäther mehrere Male ausgeschüttelt; sie löst sich dabei darin auf. Die gelbgefärbte Essigätherlösung wird verdampft, der Rückstand getrocknet und gewogen. Es ergeben sich 0,348 g, d. h. 17,4 % präformiertes Sapogenin aus 2 g Merckschem Konvallarin. Bei einstündigem Zerkochen mit Salzsäure gibt es noch Spuren von Zucker ab; deshalb muß es als ein sekundäres Glykosid und nicht als ein Endsapogenin im Sinne Koberts bezeichnet werden.

Ob diese Substanz in der lebenden Pflanze präformiert ist, geht natürlich aus meiner Untersuchung nicht hervor; sie kann beim Trocknen der Pflanze oder bei Merck während der Darstellung, über die wir ja nichts wissen, entstanden sein. Genug, soviel steht fest, daß das Handelspräparat ein Gemisch von drei Substanzen ist, und daß das neutrale Konvallarin und die Konvallarinsäure nicht über 82,6 % davon betragen.

Es schien mir von Wert, dies noch durch einen zweiten Versuch zu bestätigen.

Zweite Zerlegung von Merckschem Konvallarin.

1 g Konvallarin von Merck wird mehrfach mit heißem Essigäther ausgezogen und die Auszüge noch heiß filtriert. Schon gleich beim Filtrieren scheidet sich ein Teil des präformierten Sapogenins, welches nur in heißem Essigäther gut löslich ist, im kalten Reagenzglas als fester, weißer Körper ab. Auf dem Filter bleiben, nach mehrfachem Waschen mit heißem Essigäther, das saure und das neutrale Saponin zurück. Der Verdunstungsrückstand des Filtrates, d. h. das präformierte Sapogenin wird gewogen und ergibt 0,206 g, d. h. 20,1 %.

Durch Anwendung erhitzten Essigäthers hat sich also die Ausbeute an präformiertem Sapogenin gegen das vorige Mal noch erhöht.

Infolge der schweren Löslichkeit dieses präformierten Sapogenins in physiologischer Kochsalzlösung mußte diese Substanz erst in destilliertem Wasser mit Hilfe einiger Tropfen stark verdünnter Natronlauge gelöst werden, und erst dicht vor dem Zusatz von Blutkörperchen wurde Kochsalzlösung hinzugegeben. Über die Wirkung wird weiter unten berichtet werden.

Eine dritte Analyse von 1 g Substanz, über die ich nur kurz berichte und die in derselben Weise wie die zweite ausgeführt wurde, ergab 19,5 % präformiertes Sapogenin. Der Durchschnitt der beiden letzten Werte ist 19,8 %.

Der in Essigäther unlösliche Rückstand, der also das saure und das neutrale Saponin enthält, wird in heißem Wasser + 1 Tropfen verdünnter Ammoniaklösung gelöst und die Lösung zwecks Fällung des sauren Saponins mit verdünnter Salzsäure versetzt. Die nun mit Salzsäure gefällte Flüssigkeit wird zum Absetzen des Niederschlages auf Eis gestellt, dann filtriert, der auf dem Filter gesammelte Niederschlag mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagiert, getrocknet und das saure Saponin gewogen. Es ergeben sich 0,427 g, also 42,7% Konvallarinsäure. Auch diese löst sich sehr schwer in Kochsalzlösung und wird daher erst in destilliertem Wasser mit Hilfe von sehr verdünnter Natronlauge gelöst, dann neutralisiert und durch Kochsalz isotonisch gemacht. Die Versuche damit folgen weiter unten.

Eine vierte Analyse des Merckschen Präparates, die ich nur kurz anführe, ergab 43,5 % Konvallarinsäure. Der Durchschnitt beider Bestimmungen ergibt 43,1 %.

Das nach Ausfällen der Konvallarinsäure erhaltene Filtrat, welches von wirksamen Stoffen nur noch das neutrale Saponin enthält, wird zur Trockene verdampft, der Rückstand mit heißem Methylalkohol aufgenommen, die methylalkoholische Lösung konzentriert und mit Äther gefällt. Der Verdunstungsrückstand des Äthers erweist sich als unwirksam. Der Ätherniederschlag wird in 96proz. Alkohol heiß gelöst, filtriert und das Filtrat in gewogener Schale verdunstet. Die Wägung des ge-

trockneten Rückstandes ergab 0,200 g neutrales Konvallarin. also 20%. Die Lösung in physiologischer Kochsalzlösung machte nicht die geringste Schwierigkeit.

Eine weitere Analyse, in gleicher Art ausgeführt, ergab 22,4% neutrales Konvallarin; der Durchschnitt beider Bestimmungen beträgt 21,2%.

Mithin fand ich im Merckschen Präparat im Durchschnitt 43,1% Konvallarinsäure, 21,2% neutrales Konvallarin und 19,8% präformiertes Sapogenin. Der Wassergehalt des Präparates wurde zu 9% gefunden. 6,9% kommen also auf Verunreinigungen. Ich kann somit der Ansicht von Lindner[1]), nach der das Mercksche Präparat Konvallarin eine einheitliche Substanz ist, nicht beistimmen. Wir werden später erfahren, daß auf biologischem Wege sogar noch eine weitere Substanz darin ermittelt werden kann.

**b) Versuche mit dem nicht zerlegten Merckschen Präparat „Konvallarin".**

Zur Konstatierung der Wirkung des Merckschen Präparates wurden chemische Reaktionen und biologische Versuche angestellt.

Ich stellte eine Reihe von für Saponinstoffe in Betracht kommende chemische Reaktionen zunächst mit dem Gemisch der Substanzen an, wie sie das Mercksche Präparat enthält, und sodann mit den einzelnen Komponenten.

1. Konzentrierte Schwefelsäure für sich allein gibt mit dem Merckschen Präparat sehr bald einen intensiv roten, an Kirschen erinnernden Farbenton. Die Kirschfärbung wird immer deutlicher, gleichzeitig tritt beim Spektroskopieren eine Absorptionslinie im Gelbgrün auf. Nach fünf Stunden intensive kirschrote Färbung; ferner zeigt das Spektroskop einen breiten Streifen im Grün und einen ganz schmalen im Rot, nahe dem Gelb. Am schönsten tritt die Reaktion auf, wenn man ein wenig Konvallarin Merck in Substanz mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure in einer Reibschale zerreibt. Nach kurzer Zeit schon tritt, wohl unter Mitwirkung des Sauerstoffes und der Feuchtigkeit der Luft, die kirschrote Färbung ein.

2. Furfurol-Schwefelsäure, d. h. ein Gemisch von einem Tropfen alkoholischer 1 proz. Furfurollösung mit 1—2 $cm^3$ konzentrierter Schwefelsäure. Hiervon werden einige Tropfen zur Substanz zugesetzt. Im Laufe der ersten halben Stunde tritt auf dem Uhrglase keinerlei

[1]) Lindner, Das Konvallarin. Wiener Monatshefte für Chemie, 36, 257 (1915).

Färbung auf. Nach einigen Stunden zeigt sich dann eine schwache Rotfärbung. Später nimmt das Gemisch eine violette und zuletzt sogar eine blauschwarze Farbe an.

3. α-Naphthol-Schwefelsäure ruft nach kurzer Zeit eine kirschrote bis violettrote Färbung hervor. Wenn man mit Eisessig verdünnt und dann spektroskopiert, ist ein prachtvoller Streifen im Grün, im Gelb und im Blau zu sehen.

4. Vanillin-Schwefelsäure. Bei Zugabe von einigen Tropfen einer 1 proz. alkoholischen Vanillinlösung zu einer alkoholischen Lösung des Merckschen Präparates und Unterschichten mit konzentrierter Schwefelsäure bildet sich an der Grenze ein roter Ring. Diese Reaktion hat vor der mit Schwefelsäure allein keine Vorzüge. Das gleiche gilt von Thymol-Schwefelsäure und von Benzaldehyd-Schwefelsäure. Auch Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure sowie das Kilianische Digitalin- und Digitoxinreagens ergaben nichts Besonderes.

5. Konzentrierte Salzsäure. Wird etwas Mercksche Substanz in Alkohol gelöst und mit konzentrierter Salzsäure erwärmt, so nimmt das Gemisch eine rote Farbe an. Auch ohne Erhitzen ist sogar schon sehr bald eine rosa Färbung wahrzunehmen. Verdünnt und spektroskopiert man, so sieht man einen Absorptionsstreifen im Gelb und einen im Grün. Die Rotfärbung ist noch mit 0,5 mg Merckscher Substanz beim Kochen zu sehen. Diese Reaktion gilt sonst als spezifisch nur für ein einziges Saponin, nämlich für das der Sapindusnüsse.

6. Konzentrierte Salpetersäure. Setzt man zu einer alkoholischen Lösung des Merckschen Präparates 1—2 Tropfen konzentrierte Salpetersäure hinzu, so nimmt man eine prachtvolle Himbeerrotfärbung der Flüssigkeit wahr.

7. Nesslers Reagens. Selbst wenn nur 1 $cm^3$ einer 0,01 proz. ammoniakfreien Lösung des Merckschen Präparates verwendet wird, tritt beim Erwärmen mit etwas Neßlerschem Reagens eine graue Verfärbung ein und allmählich entsteht ein schwärzlicher Niederschlag. Auf Fehlingsche Lösung wirkt selbst die zehnfache Menge der Substanz nicht ein.

8. Chromsäure-Eisessig. In dem Buche „der Nachweis organischer Verbindungen, ausgewählte Reaktionen und Verfahren" von L. Rosenthaler ist, gestützt auf Lifschütz[1]) folgende Reaktion für Olsäure angegeben: „Die Lösung von 1 Tropfen Olsäure in 3—4 $cm^3$ Eisessig wird mit 1 Tropfen 10 proz. Chromsäureeisessig stehen gelassen. Die anfangs grüne Lösung wird violett bis kirschrot und zeigt ein tiefdunkles, breites Absorptionsband im Grün, dicht an Blau, ein schmäleres näher dem Gelb und ein noch schwächeres zwischen Orange und Gelb. Erwärmen des Gemisches auf 70—80° beschleunigt die Reaktion, die auch mit geschmolzener Trichloressigsäure ohne Oxydationsmittel eintritt." Die erste Phase dieser eben angeführten Reaktion für Ölsäure, d. h. die Grasgrünfärbung, gibt eine Reihe von Saponinen sowie auch das Mercksche Präparat. Es handelt sich hier offenbar um Reduktion.

[1]) Lifschütz, Zeitschrift f. phys. Chemie 56, 446 (1908).

9. Einige cm³ frisch gelöstes Ferricyankalium + 1 Tropfen Eisenchlorid. Gibt man von dieser bräunlich-gelben Lösung 2 Tropfen zu einigen Tropfen einer recht verdünnten Lösung des Merckschen Präparates, so färbt sich das Gemisch sofort erst grün, dann sehr schön blau. Es tritt also eine Reduktion ein.

10. Ammoniakalische Silbernitratlösung verfärbt sich beim Erwärmen mit Merckscher Substanz nicht. Diese Reaktion weist in Handelssaponinen reduzierende Verunreinigungen nach, wirkt aber auf die meisten Saponine an sich nicht ein.

11. Beim Erwärmen unserer Substanz mit einigen Tropfen einer Lösung von Kaliumpermanganat tritt durch Reduktion Entfärbung und eine Abscheidung von Braunstein ein. Diese Reaktion gilt für alle Saponine, wie ja überhaupt für die meisten organischen Substanzen.

12. 10 proz. Gerbsäure. Tannin fällt eine Reihe von Stoffen der Digitalingruppe, reagiert mit den Saponinen aber nicht. 1 mg des Merckschen Präparates, in 1 cm³ Wasser gelöst, gibt mit 1 Tropfen 10% Gerbsäure und 1 Tropfen verdünnter Salzsäure einen weißen Niederschlag.

13. Phosphormolybdänsäure u. Phosphorwolframsäure fällen in salzsaurer Lösung die meisten Glykoside und daher auch die Mercksche Substanz. Die Fällung ist aber keine intensive und gestattet auch keine Abtrennung vom Konvallamarin, da dieses mitgefällt wird.

14. Bleiazetat, neutrales und basisches. Alle sauren Saponine werden schon von neutralem Bleiazetat gefällt; viele neutrale fallen mit Bleiessig aus. Ein Quantum Mercks Konvallarin wurde in verdünntem Alkohol unter Erwärmen gelöst und die klare Lösung erst mit neutralem Bleiazetat und dann mit Bleiessig im Überschuß versetzt. Der sich bildende Niederschlag wurde abfiltriert; er mußte die Gesamtmenge des präformierten Sapogenins, der Konvallarinsäure und des neutralen Konvallarins enthalten, falls letzteres durch Bleiessig fällbar ist; während das Filtrat das Konvallamarin enthalten mußte. Später ergab sich bei Versuchen mit dem reinen neutralen Konvallarin, daß es in der Tat durch Bleiessig fällbar ist, während das reine Konvallamarin durch Bleiessig nicht fällbar ist. Der obige Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen, fein zerrieben und mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und filtriert. In das wässerige Filtrat konnte jetzt nur das neutrale Konvallarin, aber nicht die Konvallarinsäure übergehen, da nur ersteres in Wasser löslich ist. Letztere mußte neben schwefelsaurem Blei auf dem Filter sein. Als Verunreinigung konnte im Filtrat nur Schwefelsäure vorhanden sein. Das Filtrat wurde jetzt auf chemische Reaktionen geprüft:

a) Mit konzentrierter Salzsäure erwärmt ergab es eine violett-rote Färbung.

b) Mit alkoholischer Lösung von α-Naphthol versetzt und mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, ergab es eine prachtvolle Schichtreaktion, nämlich drei Ringe; der unterste Ring war grün, der mittlere Ring braun und der oberste Ring rosarot. Beim Durchschütteln wurde das ganze rosarot gefärbt.

c) Mit Thymol-Schwefelsäure ergab es zwei Ringe; der untere Ring war braun, der andere rosa. Beim Durchschütteln nimmt das Gemisch eine rosarote Färbung an.

d) Mit dem Reagens I und II von Kiliani ergab es rosa Färbung.

e) Mit Furfurol-Schwefelsäure entstand zunächst nur eine braunrote Farbe; später, nach längerem Stehen, ging die braunrote Farbe in blaugrün über.

f) Konzentrierte Schwefelsäure für sich allein ergab einen rosa Ring.

g) Benzaldehyd-Schwefelsäure färbte sich mit dem Filtrat nur rotbraun.

h) Vanillin-Schwefelsäure ergab auch nur eine braune Färbung, jedoch fluoreszierte die Lösung grün.

Dieselben Reaktionen wurden auch mit dem Filtrat gemacht, in welchem das Konvallamarin enthalten sein mußte, nachdem dieses Filtrat durch Behandlung mit Schwefelsäure vom Blei befreit worden war. Das Konvallamarin gab fast dieselben Reaktionen wie das neutrale Konvallarin, so daß eine Unterscheidung durch chemische Reaktionen bei diesen Substanzen nicht weiter möglich war. Sie unterscheiden sich eben nur durch das verschiedene Verhalten gegen Bleiessig; dieses genügt aber zur Trennung beider. Das Konvallarin wird davon gefällt, das Konvallamarin aber nicht.

Bei erneuter Behandlung des Merckschen Präparates Konvallarin mit Bleiazetat und Bleiessig wurde das von Konvallamarin befreite neutrale Konvallarin gewogen und in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Einen Teil davon verwandte ich zu Tierversuchen, die bei den Versuchen mit dem neutralen Konvallarin verzeichnet sind. Der andere Teil wurde wie das Filtrat, in dem das Konvallamarin enthalten war, mit verdünnter Schwefelsäure zerkocht. Die erhaltenen Sapogenine wurden gewogen, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zu Blutversuchen verwandt. Dabei ergab sich, daß das Sapogenin des neutralen Konvallarins, wie wir ja schon wissen, hämolytische Wirkungen besitzt, während bei dem Spaltungsprodukt des Konvallamarins keine Hämolyse zu erhalten war. Daraus ergibt sich, daß die Bleimethode wirklich eine Trennung des neutralen Konvallarins vom Konvallamarin bewirkt.

15. Baryumhydroxyd. Etwa 0,5 g Konvallarin von Merck wird in destilliertem Wasser konzentriert gelöst und mit einer heiß gesättigten Baryumhydroxydlösung im Überschuß versetzt. Es bildet sich ein Niederschlag von Barytsaponin. Dieser wird sofort abfiltriert und noch feucht mit Alkohol, dem etwas verdünnte Schwefelsäure zugesetzt ist, verrieben. Dabei entsteht Baryumsulfat und freies Konvallarin,

das sich löst. Diese Lösung wird filtriert, mit einem Tropfen Natriumkarbonat versetzt und in einer Schale verdunstet. Der Rückstand wird mit 5 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, wobei nicht alles in Lösung geht. Die Lösung wird daher nochmals filtriert, dann neutralisiert und zu einem hämolytischen Versuch mit Hammelblutkörperchen verwandt. Es erfolgt durch eine relativ kleine Menge der gewonnenen Substanzen eine völlige, allerdings langsam entstehende Hämolyse. Durch die Behandlung mit Baryumhydroxyd ohne längeres Erwärmen hat das Konvallarin von Merck seine hämolytische Wirkung also noch nicht ganz verloren. Das Filtrat vom Baryumhydroxydniederschlag wurde nach Abscheidung des Baryts mit Schwefelsäure zerkocht, ergab aber keinen Sapogeninniederschlag; auch die Fehlingsche Probe war negativ. Daraus ergibt sich, daß das Konvallarin, wie alle Saponine von konzentrierter heißer Barythydratlösung, quantitativ gefällt wird und zwar als Barytsaponin. Bei längerem Erhitzen wirkt Baryt allerdings auf alle bisher nach dieser Richtung untersuchten Saponine zersetzend. Das Konvallamarin wird von Barythydratlösung nicht in analoger Weise gefällt. Auch dies ist ein Unterschied beider Glykoside.

16. Ferd. Mayers Reagens, d. h. eine angesäuerte Lösung von Quecksilberjodidjodkalium ruft in der Lösung des Merckschen Präparates keinen Niederschlag hervor. Dieses Reagens ist für meine wie für andere Glykoside unbrauchbar; es fällt eben nur Alkaloide. Der negative Ausfall hat hier nur insofern Bedeutung, als er zeigt, daß alkaloidische Stoffe nicht einmal in Spuren vorhanden sind. Auch die anderen Gruppenreagentien für Alkaloide wie Esbachs Reagens und Jodjodkalium versagten demgemäß.

17. Millons Reagens, d. h. ein Gemisch von salpetersaurem Quecksilberoxyd und Kaliumnitrit gab beim Erwärmen keine Rötung, während viele Handelssaponine und insonderheit unreine Quillajasaponinpräparate sich damit röten. Diese Rötung beruht aber nicht auf der Anwesenheit von Saponinen, sondern nur auf Anwesenheit einer der Salizylsäure verwandten oder damit identischen Verunreinigung der Quillajaauszüge und vieler Handelssaponine. Unser Glykosid gibt mit diesem Reagens keinen Ausschlag.

18. Neßlers Reagens wird von den meisten Saponinen in der Hitze rasch, in der Kälte langsam grau gefärbt und läßt schließlich einen grauen Bodensatz ausfallen. Das Mercksche Präparat sowie daraus rein dargestelltes zuckerfreies neutrales Konvallarin geben diese Reaktion. Sie kann aber nicht zur Unterscheidung vom Konvallamarin benutzt werden, denn dieses Glykosid gibt sie ebenfalls.

Ich lasse jetzt einige Versuche über die Wirkung des Merckschen Präparates auf Blut und Blutkörperchen folgen. Über die Zusammensetzung sei auf S. 47 verwiesen.

## Tabelle XVI.

**Wirkung des Merckschen Handelspräparates.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | sofort völl. Hämolyse | 1:25000 |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | nach 2 Min. völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | n. 16 St. fast „ „ | |
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | sofort völl. Hämolyse | 1:25000 |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | n. 25 Min. völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 16 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ 24 „ nur part. „ | |
| 3. | Hühnerblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | n. 45 Min. völl. Häm. | 1:25000 |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ 50 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | „ 1¼ St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ 24 St. nur part. „ | |

Wie diese Tabelle zeigt, ist die Wirkung des Handelspräparates eine sehr starke. Die Grenze der hämolytischen Wirkung für das Konvallarin von Merck liegt für Hammelblutkörperchen bei **1:25000**, für Menschenblut und Hühnerblut liegt sie ebenfalls bei **1:25000**.

Da die technische Bedeutung der Saponine von ihrer Schaumkraft abhängt, lasse ich einen Schüttelversuch folgen. Dazu wurde das Merckscke Präparat in Wasser in fallender Konzentration gelöst.

I. 5 cm³ enthalten 5 mg Konvallarin-Merck
II. 5 „ „ 2,5 „ „ „
III. 5 „ „ 1,0 „ „ „
IV. 5 „ „ 0,5 „ „ „
V. 5 „ „ 0,25 „ „ „
VI. 5 „ „ 0,10 „ „ „
VII. 5 „ „ 0,01 „ „ „

Alle Gläschen wurden 1 Minute lang geschüttelt. Bei allen Gläsern bleibt der Schaum mehrere Stunden stehen. Also liegt die Grenze, bei der noch der Schaum nach dem

Schütteln längere Zeit stehen bleibt, für das Mercksche Präparat bei **1:500000.** Eine solche Schaumkraft muß als recht beträchtlich bezeichnet werden.

Dasselbe Präparat wurde jetzt auch in bezug auf seine Giftigkeit für Kaulquappen von Kröten und Fröschen geprüft. Benutzt wurden Tiere von 2—3 cm Länge, die in gleichweiten Gläschen mit gleichviel Brunnenwasser gehalten wurden. Stets wurde daneben mindestens ein Kontrolltier gleicher Art gehalten. Das Gift wurde nicht eingespritzt, sondern dem Wasser zugesetzt. Bei einer Konzentration von 1:50000 gingen ausnahmslos alle Kaulquappen der Frösche und Kröten binnen 16 Stunden zugrunde, oft sogar viel schneller. Auch bei 1:200000 erfolgte binnen 24 Stunden bei Froschquappen noch der Tod.

Bei analogen Versuchen mit kleinen Fischen (Barschen und Aalen) ergab sich, daß bei 1:40000 schon binnen 30 Minuten völlige Lähmung und bald darauf der Tod der Tiere erfolgte. Weitere Barsche standen nicht zur Verfügung. Aale starben noch bei 1:80000 binnen $5^1/_2$ Stunden und bei 1:100000 binnen 24 Stunden. Das Mercksche Präparat ist also auch für diese Tiere erheblich giftig.

### c) Versuche mit dem präformierten Sapogenin

Wie ich S. 47 dargetan habe, enthält das Mercksche Konvallarin ein präformiertes Sapogenin. Das Nachstehende soll über diese Substanz eine Orientierung ermöglichen. Ich beginne mit einigen chemischen Reaktionen.

1. Präformiertes Sapogenin + konzentrierte Schwefelsäure. Eine Spur des Sapogenins in Substanz wird mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure in einer Reibschale zerrieben und an der Luft stehen gelassen. Es entsteht nach kurzer Zeit eine kirschrote Färbung. Nach 15stündigem Stehen ist das Gemisch noch prachtvoll kirschrot; das Spektroskop zeigt einen breiten Absorptionsstreifen im Grün und einen ganz schmalen Streifen im Rot. Der rote Farbstoff geht beim Zusatz von Chloroform spurenweise in dieses über; die Lösung zeigt dasselbe Absorptionsspektrum. Der Farbstoff geht garnicht in Äther und Essigäther über, läßt sich aber ohne Schaden mit Eisessig verdünnen. Nimmt man aber statt Eisessig eisenoxydsulfathaltigen Eisessig, d. h. Kiliani I, so geht die Farbe in Blau über. Während dabei der Absorptionsstreifen im Grün verschwindet, wird der im Rot intensiver. Dieselbe Reaktion mit dem Gemisch der drei Substanzen, die im Konvallarin von Merck enthalten sind, ausgeführt, gibt auch violette Färbung, aber nicht so schön. Auch das Spektrum zeigt die beiden Streifen. Wird Kiliani I hinzugegeben,

so geht die Farbe ins Bläuliche über; der Streifen im Rot wird dabei intensiver und der im Grün verschwindet.

2. Präformiertes Sapogenin + Furfurol-Schwefelsäure. Von einer Lösung von einem Tropfen einer 1 proz. alkoholischen Furfurollösung + 2 $cm^3$ konzentrierter Schwefelsäure werden einige Tropfen zu einer kleinen Menge präformierten Sapogenins hinzugesetzt und stehen gelassen. Schon nach kurzer Zeit verfärbt sich das Gemisch rot. Das Spektrum zeigt einen Streifen im Grün, aber keinen im Rot. Nach stundenlangem Stehen geht die rote Farbe in Blaugrün über.

3. Präformiertes Sapogenin + Vanillin-Schwefelsäure gibt keine besondere Färbung.

4. Präformiertes Sapogenin + α-Naphthol-Schwefelsäure gibt nach kurzer Zeit eine rote Färbung. Im Spektroskop ist ein Streifen im Grün wahrzunehmen.

5. Präformiertes Sapogenin + Thymol-Schwefelsäure gibt nach einiger Zeit eine hochrote Farbe. Das Spektrum zeigt, wenn man mit Eisessig verdünnt, sehr ausgesprochene Streifen und zwar einen im Rot, einen im Grün und einen im Grünblau.

6. Präformiertes Sapogenin + konzentrierte Salzsäure ruft beim Kochen zwar nur eine Braunfärbung hervor, aber die Lösung fluoresziert jetzt stark. Beim Ausschütteln mit Äther geht die Fluoreszens nicht in den Äther, wohl aber beim Schütteln mit Chloroform in letzteres.

7. Präformiertes Sapogenin + Neßlers Reagens. Beim Erhitzen des Gemisches tritt eine Reduktion ein, denn es entsteht ein grauschwarzer Niederschlag.

8. Präformiertes Sapogenin + Chromsäure-Eisessig gibt Grünfärbung. Vgl. die S. 50 darüber gemachten Angaben.

9. Präformiertes Sapogenin + ammoniakalisches Silbernitrat gibt keine Schwärzung, auch nicht beim Erhitzen.

Ich lasse jetzt einige in einer Tabelle zusammengefaßte Blutversuche folgen. Die Tabelle zeigt, daß das präformierte Sapogenin des Merckschen Handelspräparates erhebliche hämolytische Wirkungen besitzt.

Wurde das präformierte Sapogenin tropfenweise mit Jodjodkaliumlösung erhitzt, so lange es noch Jod absorbierte, so wurde die hämolytische Kraft abgeschwächt. Wurde das Sapogenin in analoger Weise mit Bromwasser erhitzt, so verlor es dadurch seine hämolytische Kraft vollständig. Dieses Unwirksamwerden gilt für alle bis jetzt daraufhin untersuchten Saponine und Sapogenine.

## Tabelle XVII.

**Wirkung des präformierten Sapogenins aus dem Merckschen Handelspräparat.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 0,4 mg | 1:12500 | n. 5 Min. völl. Häm. | 1:25000 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | „ 6 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 24 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | früh fast „ „ | |
| 2. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 0,5 mg | 1:10000 | sofort völl. Hämolyse | 1:25000 |
| | | 6 „ „ 0,5 mg | 1:12000 | „ „ „ | |
| | | 7 „ „ 0,5 mg | 1:14000 | nach ½ St. völl. Ham. | |
| | | 8 „ „ 0,5 mg | 1:16000 | „ „ „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,5 mg | 1:20000 | „ „ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,4 mg | 1:12500 | „ 20 Min. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | „ 30 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ fast „ „ | |
| 3. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 0,4 mg | 1:12500 | früh völl. Hämolyse | 1:16667 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ fast „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ „ „ „ | |
| 4. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | sofort völl. Hämolyse | 1:10000 |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | nach 1 St. völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 1,5 mg | 1:3333 | „ 3½ St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 1,0 mg | 1:5000 | „ „ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ „ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | früh fast „ „ | |
| 5. | Katzenblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:500 | nach 3½ St. völl. Häm. | 1:2500 |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | früh völl. Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ nur part. „ | |

Von einer Reihe von Versuchen über die Einwirkung des präformierten Sapogenins an Kaulquappen des Frosches möge es genügen, einen mit den Einzelheiten anzuführen.

I. Glas. 20 cm³ Brunnenwasser + 2 Tiere (¾ cm lang) als erste Kontrolle, 11 Uhr eingesetzt.

II. Glas. 20 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 1 mg präform. Sapogenin + 1 Tier, 11 Uhr 30 Min. eingesetzt.
Konzentration: 1 : 20 000.

III. Glas. 40 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 1 mg präform. Sapogenin + 1 Tier, 11 Uhr 35 Min. eingesetzt.
Konzentration: 1:40 000.

IV. Glas. 60 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 1 mg präform. Sapogenin + 1 Tier, 5 Uhr eingesetzt.
Konzentration: 1:60 000.

V. Glas. 80 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 1 mg präform. Sapogenin + 2 Tiere (1 Tier ¾ cm lang, das andere Tier 1½ cm lang), 11 Uhr 15 Min. eingesetzt.
Konzentration: 1:80 000.

VI. Glas. 80 cm³ Brunnenwasser + 2 Tiere (1½ cm lang), als zweite Kontrolle.

In Glas II wurde das Tier nach 1 Stunde, in Glas III nach 4¾ Stunden, in Glas IV nach 17½ Stunden und in Glas V beide Tiere nach 24 Stunden tot vorgefunden. Die Kontrolltiere in Glas I und VI blieben gesund.

Das präformierte Sapogenin aus dem Konvallarin von Merck übt also noch bei einer Verdünnung von **1:80000** tödliche Wirkungen auf Kaulquappen des Frosches aus.

Auf Aale erwies es sich als weit weniger giftig; diese Tiere blieben im Wasser, das das Gift im Verhältnis von 1:20000 gelöst enthielt, am Leben. Bei Fröschen mittlerer Größe rief Injektion von 5 mg präformiertem Sapogenin keine Erkrankungserscheinungen hervor.

Ich suchte jetzt die Frage zu lösen, ob das präformierte Sapogenin beim Erhitzen mit verdünnter Mineralsäure noch Zucker abspaltet oder nicht. Zu diesem Behufe wurden 5 cm³ Lösung, entsprechend 0,5 g präformiertem Sapogenin mit 3 cm³ verdünnter Schwefelsäure 1 Stunde im Wasserbade gekocht. Auf Zusatz der Schwefelsäure schied sich natürlich sofort ein Niederschlag ab, da die Substanz in sauren Medien unlöslich ist. Nach dem Kochen wird filtriert und in einem Teile des Filtrates mit Fehling Zucker nachgewiesen, während vor dem Kochen keiner vorhanden war. Dadurch ist bewiesen, daß die in Rede stehende Substanz vor dem Zerkochen ein sekundäres Glykosid war, was ja für viele präformierte Sapogenine gilt. Bei dem Versuche, die zerkochte Substanz wieder in alkalischer Kochsalzlösung zu lösen, ergab sich, daß sie an Löslichkeit beträchtlich eingebüßt hatte. Auch dies steht in Übereinstimmung mit den Erfahrungen an anderen Saponinen. Je näher sie beim Hydrolysieren dem Stadium des Endsapogenins, also des reinen

Aglykons kommen, desto unlöslicher werden sie. Ich stellte nun eine nur spurweise alkalische Suspension der Substanz her, erhitzte diese, um die Löslichkeit etwas zu erhöhen und verwendete sie gleich nach dem Abkühlen zu hämolytischen Versuchen. Diese ergaben zunächst keine Hämolyse, sondern primäre Agglutination; hinterher aber doch langsam Hämolyse und zwar für Hammelblutkörperchen noch bei 1 : 2500.

**d) Versuche mit der Konvallarinsäure aus dem Merckschen Handelspräparat.**

Zunächst stellte ich wieder die üblichen Reaktionen an, wie ich sie schon wiederholt beschrieben habe.

1. Konvallarinsäure + konzentrierte Schwefelsäure. Nach Verlauf von kurzer Zeit ist eine Rotfärbung wahrzunehmen; bei vorsichtigem Unterschichten sehr geringer Mengen mit konzentrierter Schwefelsäure bildet sich wenigstens ein roter Ring.

2. Konvallarinsäure + Furfurol-Schwefelsäure. Schon nach einigen Minuten tritt, falls die Reaktion im Uhrglas ausgeführt wird, am Rande des Uhrglases eine Kirschrotfärbung auf; nach einiger Zeit nimmt dann das ganze Gemisch diese Färbung an. Im Spektroskop sind zwei Absorptionsstreifen zu sehen, einer im Grün und einer im Rot. Dieselbe Reaktion im Reagensglas mit Unterschichtung ausgeführt, ergibt zunächst einen schönen roten Ring. Beim Durchschütteln nimmt das Ganze erst eine rote Farbe an, später geht die rote Farbe in Blau und dann in Grün über.

3. Konvallarinsäure + α-Naphthol-Schwefelsäure. Setzt man zu einer alkoholischen Konvallarinsäurelösung 1—2 Tropfen einer alkoholischen α-Naphthollösung hinzu und unterschichtet vorsichtig mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so nimmt man folgende Schichtreaktion wahr: der Ring ist nach unten hin grün und nach oben zu rot. Beim Durchschütteln nimmt die Flüssigkeit eine kirschrote Färbung an.

4. Konvallarinsäure + konzentrierte Salzsäure gibt beim Erwärmen eine Rotfärbung, die bald in violett übergeht.

5. Konvallarinsäure + konzentrierte Salpetersäure. Auf Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Salpetersäure zu einer alkoholischen Konvallarinsäurelösung entsteht eine Rotfärbung.

6. Konvallarinsäure + Neßlers Reagens gibt beim Erwärmen eine Reduktion und es entsteht ein grauschwarzer Niederschlag.

7. Konvallarinsäure + Chromsäure-Eisessig gibt beim Erwärmen eine grasgrüne Färbung, die recht beständig ist und wohl auf Reduktion beruht.

8. Wird Konvallarinsäure mit einem Tropfen eines Gemisches von frisch gelöstem roten Blutlaugensalz mit Eisenchloridlösung versetzt, so entsteht eine sehr schöne Blaufärbung. Auch diese Reaktion beruht auf Reduktion.

9. Wird Konvallarinsäure mit ammoniakalischer Lösung von Silbernitrat oder mit Fehlingscher Lösung erwärmt, so tritt keine Reduktion ein.

10. Wird zu einigen cm³ alkoholischer Lösung von Konvallarinsäure gesättigte wässerige Lösung von neutralem Bleiazetat im Überschuß hinzugegeben, so entsteht eine Fällung. Filtriert man und gibt zu dem Filtrat etwas Bleiessig, so bleibt die Flüssigkeit klar. Dies stimmt zu der längst bekannten Tatsache, daß alle sauren Saponine schon durch neutrales Bleiazetat quantitativ ausgefällt werden.

Ich lasse in Form einer Tabelle einige Blutversuche folgen, zu denen die Konvallarinsäure als neutrales Natriumsalz in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, verwendet wurde.

**Tabelle XVIII.**

**Wirkung der Konvallarinsäure aus dem Merckschen Handelspräparat.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 0,5 mg | 1:10000 | sofort völl. Hämolyse | 1:50000 |
| | | 5 „ „ 0,4 mg | 1:12500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16667 | in 5 Min. völl. „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 24 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ 24 „ „ „ | |
| 2. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1: 5000 | sofort völl. Hämolyse | 1:50000 |
| | | 5 „ „ 0,4 mg | 1:12500 | in ¼ St „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ „ „ | |
| 3. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 4,8 mg | 1: 1041 | sofort völl. Hämolyse | 1:50000 |
| | | 5 „ „ 3,2 mg | 1: 1562 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1,6 mg | 1: 3125 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1,6 mg | 1: 6250 | in 10 Min. völl. „ | |
| | | 5 „ „ 0,48 mg | 1:10410 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,32 mg | 1:15620 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,16 mg | 1:31250 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,10 mg | 1:50000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,16 mg | 1:62500 | „ fast „ „ | |
| 4. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 0,4 mg | 1:12500 | früh völl. Hämolyse | 1:25000 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ partielle „ | |

**Tabelle XIII.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 5. | Hammelblut | 5 cm³ enth. 0,4 mg | 1:12500 | früh partielle Häm. | ? |
| 6. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 0,3 mg | 1:16666 | früh völl. Hämolyse | 1:25000 |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ fast „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,1 mg | 1:100000 | „ partielle „ | |
| 7. | Serumfreies Hundeblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1: 5000 | in 2 Min. totale Häm. | 1:25000 |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ 2 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | „ 5 St. 25 Min. tot. „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | früh totale Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ partielle „ | |

Wie die Tabelle zeigt, liegt die Grenze der hämolytischen Wirkung für Hammelblutkörperchen bei **1:50000**, für Meerschweinchenblut und Menschenblut ebenfalls bei **1:50000**, für Hundeblut, Rinderblut und serumfreies Hundeblut bei **1:25000**. Bei Hammelblut erfolgte bei einer Konzentration von 1:12500 nur partielle Hämolyse, die Grenze dürfte bei 1:10000 liegen. Die Wirkung auf die meisten Blutarten ist also eine recht starke.

Ich lasse nun eine Tabelle folgen, in der eine Übersicht über die Wirkung des Gemisches von Konvallarinsäure und präformiertem Sapogenin gegeben wird (Tabelle s. S. 62).

Wie die Tabelle zeigt, wirkt das Gemisch der Konvallarinsäure mit dem präformierten Sapogenin noch stärker als erstere allein. Die Grenze liegt hier für Hammelblutkörperchen und Kaninchenblut bei **1:200000**, für Meerschweinchenblut und Hundeblut bei 1:100000, für Menschenblut bei 1:50000 und für Hahnblut bei 1:33333.

Weiter wurden Versuche gemacht über die Einwirkung des Bromierens und des Jodierens auf Konvallarinsäure. Das Bromieren hob die hämolytische Wirksamkeit völlig auf. Jod schien nicht aufgenommen zu werden.

## Tabelle XIX.

**Wirkung des Gemisches von Konvallarinsäure und präformiertem Sapogenin aus dem Merckschen Handelspräparat.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 0,6 mg | 1: 8333 | sofort völl. Hämolyse | 1 : 200 000 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | n. 10 Min. völl. „ | |
| | | 10 „ „ 0,3 mg | 1:33333 | früh „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,05 mg | 1:100000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,05 mg | 1:200000 | n. 24 St. „ „ | |
| 2. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 3 mg | 1: 1666 | sofort völl. Hämolyse | 1 : 100 000 |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1: 2500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1: 5000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | n. 10 Min. völl. „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | n. 10 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | früh „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,1 mg | 1:100000 | „ „ „ | |
| 3. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 0,6 mg | 1: 8333 | früh völl. Hämolyse | 1 : 50 000 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,05 mg | 1:100000 | „ partielle „ | |
| 4. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 0,1 mg | 1:50000 | früh völl. Hämolyse | 1 : 200 000 |
| | | 5 „ „ 0,05 mg | 1:100000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 0,05 mg | 1:200000 | „ „ „ | |
| 5. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 0,5 mg | 1:10000 | in 10 Min. völl. Häm. | 1 : 100 000 |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | „ 10 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,2 mg | 1:25000 | „ 4 St. 15 Min. völl. „ | |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | früh völl. Hämolyse | |
| | | 10 „ „ 0,1 mg | 1:100000 | „ „ „ | |
| 6. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 0,15 mg | 1:33333 | früh völl. Hämolyse | 1 : 33 333 |
| | | 5 „ „ 0,1 mg | 1:50000 | „ partielle „ | |

Von den Versuchen über die Einwirkung der Konvallarinsäure (als Natriumsalz) auf Kaulquappen des Frosches sei wenigstens einer vollständig angeführt.

I. Glas. 50 cm³ Brunnenwasser + 2 Tiere (¾ cm lang) als erste Kontrolle.

II. Glas. 50 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 14285.

III. Glas. 70 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 20000.

IV. Glas. 100 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 28571.

V. Glas. 150 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 42857.

VI. Glas. 200 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 57142.

VII. Glas. 250 cm³ Brunnenwasser, enth. 3,5 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. Konzentration: 1 : 71428.

VIII. Glas. 200 cm³ Brunnenwasser, enth. 2 mg Konvallarinsäure + 2 Tiere. (1 Tier 1½ cm lang, das andere Tier 2½ cm lang). Konzentration: 1 : 100000.

IX Glas. 150 cm Brunnenwasser, enth 1 mg Konvallarinsäure + 1 Tier. (1½ cm lang). Konzentration: 1 : 150000.

X. Glas. Kontrolle Nr. II, enthaltend 50 cm Wasser + 2 Tiere.

Der Tod der Tiere erfolgte in Glas II nach 6 Stunden, in Glas III und IV nach 7½ Stunden, in Glas V nach 16½ Stunden, in Glas VI und VII nach 23 Stunden, in Glas VIII und IX nach 24 Stunden. Die Kontrolltiere in Glas I und X blieben munter.

Die Konvallarinsäure aus dem Handelspräparat von Merck hat also noch bei einer Konzentration von **1:150000** tödliche Wirkungen auf Kaulquappen des Frosches gezeigt.

Entsprechende Versuche mit Kaulquappen der Kröte, die etwas größer waren, ergaben bei 1:10000 binnen 4 Stunden tödliche Vergiftung. Bei **1:40000** erfolgte der Tod binnen 16 Stunden; bei 1:50000 war keine sichere tödliche Wirkung mehr zu erzielen.

Bei kleinen 7 cm langen Weißfischen wirkte das konvallarinsaure Natrium in einer Verdünnung von 1:30300 im Wasser schon binnen 2¾ Stunden tödlich. Bei Aalen wirkte es in der Verdünnung von 1:57000 binnen 5½ Stunden und in der von **1:114000** binnen 16 Stunden tödlich.

Feldfrösche vertragen dagegen bei 30—50 g Körpergewicht die Einspritzung von 10 mg vom Lymphsack des Rückens aus, ohne auffällig zu erkranken. Wasserfrösche von 28 g vertragen dieselbe Dosis. Die Herztätigkeit der Tiere blieb dabei unverändert, wie durch einen Versuch am

freigelegten Herzen festgestellt wurde. Ein im Sinne des Konvallamarins wirkendes Glykosid war also ganz sicher dem benutzten Präparate nicht beigemischt.

Ein Meerschweinchen von 290 g erhielt 40 mg Konvallarinsäure als Natriumsalz unter die Haut injiciert, ohne zu erkranken. Unsere Substanz ist also für Warmblüter, wofern man sie nicht direkt ins Blut einführt, recht wenig giftig. Der Harn des Tieres enthielt nach der Einspritzung weder Eiweiß noch Zucker, wurde aber reichlich entleert. Auch bei einem Kaninchen von 1200 g zog die Einspritzung von 33 mg unter die Haut keine nachteiligen Folgen nach sich; der Harn blieb auch bei diesem Tier frei von Eiweiß und Zucker.

**e) Versuche mit dem von mir selbst abgespaltenen Sapogenin der Konvallarinsäure.**

Nach 2 Stunden langem Zerkochen von 250 mg Konvallarinsäure, in 250 $cm^3$ Wasser suspendiert und mit 5 $cm^3$ verdünnter Schwefelsäure versetzt, auf dem Wasserbade, filtrierte ich von dem abgekühlten Gemisch die Flüssigkeit ab, wusch den Filterrückstand wiederholt mit Wasser aus, brachte ihn mit heißem Alkohol in Lösung, verdunstete, trocknete und wog ihn. Es ergaben sich 175 mg Sapogenin, d. h. 70% der Konvallarinsäure. Diese 175 mg wurden in heißem destillierten Wasser mit Hilfe von kaustischem Alkali gelöst, neutralisiert und zu Blutversuchen nach Eintragen von Kochsalz bis zur Isotonie verwendet. Das Filtrat von Sapogenin gab Hexosen- und Pentosenreaktion.

**Tabelle XX.**

**Wirkung des selbstabgespaltenen Sapogenins der Konvallarinsäure.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 10 mg | 1:500 | sehr bald völl. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 7,5 mg | 1:667 | „ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | n. einig. Zeit völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | nach 16 St. völl. Häm. | |
| | | 10 „ „ 2,5 mg | 1:4000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ 16 „ „ „ | |

**Tabelle XX.** (Fortsetzung)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 2. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | nach 16 St. völl. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 7,5 mg | 1:667 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | n. 16 St. fast „ „ | |
| | | 10 „ „ 2,5 mg | 1:4000 | n. 16 nur part. „ | |

Wie die Tabelle zeigt, besitzt das Sapogenin der Konvallarinsäure hämolytische Eigenschaften, die freilich nicht sehr erheblich sind.

Es wurden nun die üblichen Reaktionen mit diesem Sapogenin angestellt.

1. Sapogenin + konzentrierte Schwefelsäure gibt bei Unterschichtung einen roten Ring.

2. Sapogenin + Furfurol-Schwefelsäure gibt keine Verbesserung des Ringes, sondern färbt bräunlichrot.

3. Sapogenin + Vanillin-Schwefelsäure: nach Verlauf von einigen Minuten färbt sich das Gemisch rötlich.

4. Sapogenin + α-Naphthol-Schwefelsäure gibt eine sehr schöne Rotfärbung.

5. Sapogenin + Thymol-Schwefelsäure zeigt ebenfalls eine prachtvolle Rotfärbung.

6. Sapogenin + Benzaldehyd-Schwefelsäure weist eine Rotfärbung auf.

7. Sapogenin + Kiliani I und II gibt nach einiger Zeit eine Rosafärbung.

8. Sapogenin + konzentrierte Salzsäure gibt beim leichten Erwärmen eine rosarote Färbung.

9. Sapogenin + Chromsäure-Eisessig ruft beim Erwärmen eine Grünfärbung hervor.

Diese Reaktionen sind die gewöhnlichen Gruppenreaktionen, wie sie sowohl den Saponinen unserer Droge als deren Sapogeninen zukommen.

**f) Versuche mit dem aus dem Merckschen Präparate dargestellten neutralen Konvallarin.**

Zunächst stellte ich wieder dieselben chemischen Reaktionen an. Dazu wurde die Substanz z. T. vorher zur Trockene verdampft.

1. Neutrales Konvallarin + konzentrierte Schwefelsäure gibt bald eine schöne Rotfärbung.

2. Neutrales Konvallarin + Furfurol-Schwefelsäure: versetzt man den Verdunstungs-Rückstand einer Spur des neutralen

Konvallarin im Uhrglas mit Furfurol-Schwefelsäure, so ist schon nach kurzer Zeit am Rande eine Kirschrotfärbung zu sehen, später färbt sich dann das Ganze rot; jedoch ist die Färbung nicht so intensiv, wie bei der Konvallarinsäure.

3. Neutrales Konvallarin + Vanillin-Schwefelsäure gibt nur eine rotbraune Färbung; aber die Flüssigkeit fluoresziert nach längerem Stehen grün.

4. Neutrales Konvallarin + α-Naphthol-Schwefelsäure zeigt einen roten Ring und ruft beim Durchschütteln eine prachtvolle violett-rote Färbung hervor. Beim Spektroskopieren ist je ein deutlicher Absorptionsstreifen im Gelb, Grün und Blau zu sehen; diese Reaktion gibt auch das neutrale Saponin aus Herba.

5. Neutrales Konvallarin + Thymol-Schwefelsäure gibt eine prachtvolle Schichtreaktion mit rotem Ring. Beim Durchschütteln der Flüssigkeit nimmt diese eine schöne, rosenrote Färbung an.

6. Neutrales Konvallarin + Benzaldehyd-Schwefelsäure färbt sich nur braunrot.

7. Neutrales Konvallarin + Kiliani I und II bedingt zunächst das Auftreten eines roten Ringes. Beim Durchschütteln nimmt die ganze Flüssigkeit eine rote Färbung an; diese geht langsam in violettrot über und hält dann längere Zeit an.

8. Neutrales Konvallarin + konzentrierte Salzsäure zeigt schon beim Erwärmen eine prachtvolle Rotfärbung.

9. Neutrales Konvallarin + Salpetersäure: nach einigen Minuten tritt eine Rosafärbung auf.

10. Neutrales Konvallarin + Neßlers Reagens. Beim Erwärmen bildet sich ein grau-schwarzer Niederschlag; es tritt also eine Reduktion ein.

11. Neutrales Konvallarin + Chromsäure-Eisessig gibt beim Erwärmen Grünfärbung.

12. Neutrales Konvallarin + ein frisch hergestelltes Gemisch von rotem Blutlaugensalz und Eisenchlorid gibt rasch durch Reduktion eine sehr schöne Blaufärbung.

Ich lasse jetzt weiter einige Blutversuche folgen, deren Ergebnis ich in einer Tabelle zusammenfasse.

**Tabelle XXI.**

**Wirkung des neutralen Konvallarins aus dem Merckschen Präparate.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | sofort völl. Häm. | **1:8000** |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | in 2 Min. völlige Häm. | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | nach 16 St. „ „ | |
| | | 8 „ „ 1 mg | 1:8000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ 16 „ part. „ | |

**Tabelle XXI.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 2. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 1 mg | 1:5000 | früh tot. Hämolyse | **1:8000** |
| | | 8 „ „ 1 mg | 1:8000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ partielle „ | |
| 3. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | sofort völlige Häm. | **1:8000** |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 10 mg | 1:1000 | früh völlige Hämol. | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ „ „ | |
| | | 8 „ „ 1 mg | 1:8000 | „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ fast völl. „ | |
| | | 5 „ „ 0,3 mg | 1:16666 | „ partielle „ | |
| 4. | Hundeblut | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | nach 3 Min. tot. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 1½ St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | früh „ „ | |
| | | 10 „ „ 1 mg | 1:10000 | „ fast „ „ | |
| 5. | Pferdeblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | nach 2 Min. völl. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ 2 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 15 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 5½ St. „ „ | |
| 6. | Hahnblut | 5 cm³ enth. 1,5 mg | 1:3333 | früh totale Hämol. | **1:3333** |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ part. „ | |
| 7. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | sofort völlige Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | nach 2 Min. völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 2 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ 6 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ part. „ | |
| 8. | Schweineblut | 5 cm³ enth. 2 mg | 1:2500 | nach ½ St. völl. Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ part. „ | |
| 9. | Katzenblut | 5 cm³ enth. 2 mg | 1:2500 | nach 16 St. völl. Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ part. „ | |
| 10 | Menschenblut | 5 cm³ enth. 50 mg | 1:100 | in ½ St. völl. Hämol. | **1:1667** |
| | | 5 „ „ 25 mg | 1:200 | „ ½ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 20 mg | 1:250 | „ ½ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 15 mg | 1:333 | „ 1 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ 1 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 3½ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1667 | „ 4¾ „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh fast völlige Häm. | |

Wie die Tabelle zeigt, wirkt das neutrale Kovallarin auf einzelne Blutarten stärker, auf andere schwächer.

Bei Versuchen, das neutrale Konvallarin zu jodieren und zu bromieren, ergab sich, daß die Einwirkung von freiem Jod die Wirkung kaum oder garnicht beeinflußte, während die Bromierung die hämolysierende Kraft völlig vernichtete.

Ich lasse einige Versuche mit Kaulquappen des Frosches 2—3 cm lang und reinem neutralen Konvallarin folgen.

Versuch I: Mittags 12 Uhr.

I. Glas. 50 $cm^3$ Brunnenwasser + 2 Tiere als Kontrolle.
II. Glas. 50 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 20 mg neutr. Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 2500.
III. Glas. 50 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 10 mg neutr. Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 5000.

Im Laufe des Nachmittags wurden die Gläser nicht angesehen. Am folgenden Morgen in Glas I beide Kontrolltiere lebendig; in Glas II und III sind dagegen am Vormittag des nächsten Tages beide Tiere tot und mazeriert.

Versuch II: Vormittags 11 Uhr.

I. Glas. 25 $cm^3$ Brunnenwasser + 2 Tiere als Kontolle.
II. Glas. 25 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 2,5 mg neutrales Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 10000.

Um 3 Uhr ist in Glas II das Tier tot, Kontrolltiere Glas I am Leben.

Das neutrale Konvallarin aus dem Konvallarin von Merck hat also noch bei 1 : 10000 binnen 4 Stunden tödliche Wirkung auf Kaulquappen des Frosches.

Es schien aussichtsvoll noch bei größerer Verdünnung des Saponins Versuche anzustellen.

Versuch III: 11 Uhr vormittags.

I. Glas. 50 $cm^3$ Brunnenwasser + 2 Tiere ($^3/_4$ cm lang) als Kontrolltiere.
II. Glas. 50 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 4 mg neutrales Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 12500.
III. Glas. 70 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 4 mg neutrales Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 17500.
IV. Glas. 100 $cm^3$ Brunnenwasser, enth. 4 mg neutrales Konvallarin + 1 Tier. Konzentration = 1 : 25000.
V. Glas. 100 $cm^3$ Brunnenwasser + 2 Tiere als zweite Kontrolle.

Am Nachmittag um 5 Uhr ist das Tier in Glas II tot, am folgenden Morgen 6 Uhr in Glas III und um 11 Uhr in Glas IV. Die Kontrolltiere in Glas I und V sind munter.

Das gereinigte neutrale Konvallarin aus dem Handelspräparat von Merck übte hier noch bei 1 : 12500 binnen 5 Std. 40 Min., bei 1 : 17500 binnen 19 Stunden und bei einer Konzentration von 1 : 25000 in einem Zeitraum von 24 Stunden tödliche Wirkungen auf Kaulquappen des Frosches aus.

Ich lasse einige Fischversuche mit demselben Präparat folgen. Ich benutzte junge Aale, wie sie wochenlang in unserem Institute vorrätig gehalten wurden.

Versuch I: 12 Uhr mittags.

I. Schale mit 2l Wasser + 2 Aale als Kontolle.
II. Schale mit 2l Wasser, enth. 40 mg neutrales Konvallarin + 1 Aal.
III. Schale mit 4l Wasser, enth. 40 mg neutrales Konvallarin + 1 Aal.

Aal II am nächsten Tage 11½ Uhr tot; Gewicht 65 g. Aal I und III am nächsten Tage gesund.

Der Tod war bei Aal II bei einer Konzentration des neutralen Saponins von 1 : 50000 nach 23 Stunden eingetreten. Aal III blieb bei einer Konzentration von 1 : 100000 am Leben.

Ich komme jetzt zu Froschversuchen mit dem neutralen Konvallarin aus dem Merckschen Handelspräparate. Es waren hier von vornherein zwei Fälle denkbar. Entweder wirken neutrales Konvallarin und Konvallarinsäure beide nur saponinartig, oder das neutrale hat im Gegensatz zum sauren, das rein saponinartig wirkt, analog dem Helleborein auch Digitalinwirkung. Die Entscheidung darüber mußten Froschversuche erbringen.

Versuch I.

25. März 1915, 12 Uhr. Feldfrosch I von 37 g, Feldfrosch II von 37 g, beide sind männlich; sie erhalten je 2 mg neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack injiciert.

3 Uhr 30 Min. Beide Tiere tot vorgefunden.

Die Sektion zeigt bei beiden im Augenblick der Eröffnung des Herzbeutels das Herz prall ausgedehnt in Diastole. An der Luft und auf Berührung hin ziehen sich beide Herzen aber langsam zusammen, so daß halbe Systole entsteht. So bleiben die Herzen.

Eine Menge von 1 : 18500 zum Körpergewicht wirkt bei Landfröschen nach wenigen Stunden letal.

Versuch II.

25. März 1915, 5 Uhr 25 Min. Feldfrosch I von 34 g, Feldfrosch II von 41 g, beide männlich, erhalten je 1 ccm = 1 mg neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack.

6 Uhr 30 Min. Frosch I träge, Frosch II noch normal.

26. März 1915, 10 Uhr. Frosch I tot vorgefunden. Sektion ergibt: Herzkammer in Systole.

Noch bei 1 : 34000 wirkt das neutrale Konvallarin aus dem Merckschen Präparate für Landfrösche tödlich und zwar durch Einwirkung auf das Herz im Sinne des Digitalins. Frosch II, welcher größer ist, bleibt gesund.

Versuch III.

26. März 1915, 11 Uhr 45 Min. Gefensterter männlicher Feldfrosch hat eine normale Pulsfrequenz von 32 pro Minute.

11 Uhr 46 Min. Injektion von 1 $cm^3$ = 2 mg neutralem Konvallarin in den Schenkellymphsack.

11 Uhr 50 Min. Frequenz noch 32 pro Minute.

11 Uhr 55 Min. Puls 28 pro Minute. Die Herzspitze verhält sich anders als die Herzkammer.

11 Uhr 56 Min. Es beginnt die Herzperistaltik, wie sie für die Glieder der Digitalingruppe charakteristisch ist.

11 Uhr 57 Min. Ein Teil der Ventrikel verharrt dauernd in Systole.

11 Uhr 59 Min. Stillstand der Kammer für immer in Systole. während die Vorkammern noch schlagen, wenn auch langsam. Der Frosch atmet aber noch und bewegt sich. Losgebunden, nimmt er normale Hockstellung ein und springt.

2 Uhr. Es ist nun auch der Nerventod eingetreten.

Also auch am freigelegten Herzen sind die typischen Erscheinungen der Digitalinvergiftung wahrnehmbar. Gerade das Freilegen des Herzens scheint den Eintritt der Systole zu begünstigen.

Versuch IV:

29. März 1915, 6 Uhr. Feldfrosch I = 30 g, Feldfrosch II = 36 g, beide männlich, erhalten je 1 $cm^3$ = 0,5 mg neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack.

30. März 1915, 9 Uhr 35 Min. Am andern Morgen werden beide Frösche bewegungslos vorgefunden. Die Untersuchung ergab, daß beide Tiere tot, aber noch nicht starr waren. Herz bei der Freilegung in halber Systole vorgefunden.

Noch bei **1:60000** (Frosch I) und **1:72000** (Frosch II) wirkt hier bei Landfröschen das neutrale Konvallarin tödlich. Herz in halber Systole.

Natürlich mußte der Verdacht aufsteigen, dem Konvallarin könnte Konvallamarin beigemischt sein, und dieses hätte die typischen Herzwirkungen und den Tod bedingt. Zu diesem Behufe wurden verschiedene Fällungen vorgenommen, die das Konvallamarin niederreißen.

Zunächst reinigte ich das Konvallarin mit Gerbsäure, da diese die meisten Substanzen von Digitalincharakter niederschlägt.

Versuch V.

30. März 1915, 5 Uhr 35 Min. Feldfrosch I = 35 g, Feldfrosch II = 37 g, erhalten in den Rückenlymphsack je 1 $cm^3$ = 5 mg neutrales Konvallarin, nachdem es mit Gerbsäure vorbehandelt und das Filtrat von der überschüssigen Gerbsäure wieder befreit worden war. Die Dosierung wird dadurch ungenau, daß die Gerbsäure auch Konvallarin mit niederreißt.

6 Uhr 30 Min. Beide Frösche normal.

31. März 1915, 9 Uhr 30 Min. Beide Tiere tot. Herz halb systolisch,

Bei 1 : 7000 und 1 : 7400 wirkt auch das mit Gerbsäure behandelte neutrale Konvallarin tödlich.

Versuch VI.

1. April 1915, 12 Uhr 15 Min. Feldfrosch I = 36 g, Feldfrosch II = 35 g, männlich, erhalten je 2 $cm^3$ = 2 mg des mit Gerbsäure gereinigten neutralen Konvallarins in den Rückenlymphsack.

4 Uhr. Beide Tiere tot, aber noch nicht starr. Sektion ergibt bei Frosch I Kammern in vollständiger Systole. Bei Frosch II ist das Herz beim Eröffnen im ersten Augenblick gefüllt, zieht sich aber an der Luft vollkommen zusammen.

Bei 1 : 18000 und bei 1 : 17500 wirkt das mit Gerbsäure behandelte neutrale Konvallarin noch letal.

Versuch VII.

1. April 1915, 6 Uhr 30 Min. Feldfrosch von 45 g, männlich, erhält 1 $cm^3$ = 1 mg mit Gerbsäure gereinigtes neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack.

2. April 1915, 11 Uhr. Tier tot. Sektion: Herz zeigt vollständige Systole der Kammer.

Das mit Gerbsäure gereinigte Konvallarin wirkt noch bei 1 : 45000 letal auf Feldfrösche und zwar unter Hervorrufung von systolischem Herzstillstand.

Versuch VIII.

3. April 1915, 12 Uhr 15 Min. Feldfrosch I = 45 g, Feldfrosch II = 41 g, männlich, erhalten je 1 $cm^3$ = 1 mg des mit Gerbsäure gereinigten neutralen Konvallarins in den Rückenlymphsack.

5 Uhr 30 Min. Beide Frösche tot. Sektion ergab bei Frosch I halbe Systole, bei Frosch II ebenfalls halbe Systole, aber oben, nicht an der Spitze.

Also auch hier wirkt noch bei 1 : 41000 und 1 : 45000 das mit Gerbsäure gereinigte neutrale Konvallarin auf Feldfrösche letal.

Für Wasserfrösche war, wie ich kurz zusammenfasse, die Wirkung ganz analog, nur fehlte es mir an Substanz, um die kleinste noch wirksame Dosis festzustellen.

Die beste, ja die einzige Methode, um Konvallarin und Konvallamarin scharf und sicher zu trennen, ist, wie ich wiederholt dargetan habe, die Bleiessigmethode. Durch dieses Fällungsmittel wird das Konvallarin gefällt, das Konvallamarin aber nicht.

Die nachstehenden Versuche sind mit einem derartig gereinigten Präparate von Konvallarin ausgeführt worden.

Versuch XIV.

12. Aug. 1916, 12 Uhr 35 Min. Rana temporia von 25 g, weiblich, erhält 20 mg mit Blei gefälltes, natürlich wieder bleifrei gemachtes, neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack subkutan.

1 Uhr. Es treten Lähmungserscheinungen ein.

1 Uhr 10 Min. Tod. Sektion: Herz steht still, befindet sich aber zunächst nicht in charakteristischer Systole.

Versuch XV.

12. Aug. 1916, 12 Uhr 30 Min. Rana esculenta von 20 g, männlich, erhält 8 mg dieses gereinigten neutralen Konvallarins in den Rückenlymphsack.

1 Uhr 30 Min. Frosch tot. Sektion: Herz in halber Systole.

Versuch XVI.

14. Aug. 1916. 11 Uhr. Vier Frösche von 14 g bis 18 g Gewicht, und zwar zwei Eskulenten, männlich, ein Temporaria, weiblich, und ein Temporaria, männlich, erhalten je 4 mg nach der Bleimethode dargestelltes von Konvallamarin freies, neutrales Konvallarin.

12 Uhr. Alle Tiere schwer krank. Sie ertragen die Rückenlage, bewegen sich aber noch. Sektion: Das freigelegte Herz steht, und zwar die Kammer in Systole, still. Die Vorhöfe in Diastole. Einige Tiere atmen noch und machen Abwehrbewegungen.

zirca 12 Uhr 30 Min. Jede Bewegung hat aufgehört.

Versuch XVII.

15. Aug. 1916. Gefensterter Feldfrosch.

11 Uhr 43 Min. Normale Pulsfrequenz 32 in $^1/_2$ Minute.

11 Uhr 44 Min. Puls 32 in $^1/_2$ Minute.

11 Uhr 45 Min. Injektion von 10 mg gereinigtem neutralen Konvallarin in den Oberschenkel bei freigelegtem Herzen.

11 Uhr 46 Min. Puls nach der Injektion erst noch 32 in $^1/_2$ Minute, dann 29 in $^1/_2$ Minute.

11 Uhr 50 Min. Puls 28 in $^1/_2$ Minute. Die Spitze fängt an, sich abzuschnüren und verharrt länger in Zusammenziehung als die anderen Teile.

11 Uhr 54 Min. Die Spitze dehnt sich überhaupt nicht mehr aus; der übrige Teil des Ventrikels zeigt die für Digitalisvergiftung charakteristische Peristaltik.

11 Uhr 55 Min. Vollständige Systole des Ventrikels, während die Kammern noch schlagen und zwar 31 in $^1/_2$ Minute.

11 Uhr 56 Min. Der Frosch atmet noch, jedoch Kammer absolut stillstehend. Losgebunden hüpft er zunächst noch sehr kräftig umher.

1 Uhr. Es ist auch der Nerventod eingetreten.

Dieser Versuch, welcher an einer weiblichen Temporaria von 36 g angestellt wurde, ergibt, daß das neutrale, gereinigte, von Konvallamarin freie Konvallarin an sich digitalisartige Wirkungen entfaltet. Es ist aber mit dem Konvallamarin nicht identisch, denn 1. ist es durch Blei fällbar, das Konvallamarin aber nicht; 2. gibt es beim Zerkochen ein wirksames Sapogenin, während das Spaltungsprodukt des Konvallamarins keine hämolytischen Wirkungen besitzt.

Versuch XVIII.

14. Aug. 1916, 12 Uhr. Kröte von 11 g erhält 2 mg gereinigtes neutrales Konvallarin in den Rückenlymphsack subkutan.

15. Aug. 1916, 11 Uhr 15 Min. Das Tier ist gesund und erhält noch 10 mg gereinigtes neutrales Konvallarin injiciert. Das Tier hat nach der Injektion fortwährend Krampfanfälle an allen vier Extremitäten und legt sich wiederholt auf die Seite und auch auf den Rücken. Puls 30 in $^1/_2$ Minute. Zeitweise sind die Gliedmaßen gelähmt. Die Krampfanfälle halten drei Tage an.

Dieser Versuch, der an einem ganz kleinen, nur 11 g schweren Exemplar von Bufo cineria angestellt worden ist, beweist, daß das neutrale, von Konvallamarin freie Konvallarin digitalisartige Wirkungen hat. Denn nur unter dieser Voraussetzung wird es verständlich, daß größere Frösche an 10 mg unserer Substanz starben, die kleine Kröte aber nicht, sondern daß sie nach drei Tage langen schweren Krämpfen sich wieder erholte. Kröten sondern nämlich selbst ein in die Gruppe des Digitalins gehöriges Gift ab und sind daher relativ unempfindlich dagegen. Selbst bei größeren Dosen bekommen sie keinen systolischen Stillstand, wohl aber treten nach größeren Dosen einzelner unserer Substanzen Krämpfe ein, die auf im Körper des Tieres entstandene unvollkommene Spaltungsprodukte bezogen werden.

**g) Versuche mit dem von mir selbst abgespaltenen Sapogenin des neutralen Konvallarins.**

100 $cm^3$ der 0,1 proz. Lösung des neutralen Konvallarins werden mit 5 $cm^3$ verdünnter Schwefelsäure versetzt, filtriert

und drei Stunden im Wasserbade gekocht, wobei sich langsam ein geringer Niederschlag bildet. Die trübe Flüssigkeit wird zum besseren Absetzen des Niederschlages einige Stunden auf Eis gestellt. Es scheidet sich ein dunkler Niederschlag von Sapogenin ab. Dieser wird abfiltriert, gut mit destilliertem Wasser gewaschen und in heißem Essigäther gelöst; diese Lösung wird filtriert, der Essigäther verdunstet und der Rückstand in 10 $cm^3$ physiologischer Kochsalzlösung in der Wärme gelöst. Über die damit angestellten Blutversuche siehe die folgende Tabelle.

Wie die Tabelle zeigt, liegt die Grenze der hämolytischen Wirkung des Sapogenins des neutralen Konvallarins für Hammelblutkörperchen, Meerschweinchenblut und serumarmes Hundeblut bei 1 : 5000, für Menschen- und Kaninchenblut bei 1 : 2500 und für Rinderblut bei 1 : 2000.

Falls das Saponin beim Kochen unter Einwirkung der Mineralsäure hydrolytisch zerlegt worden war, mußte das nach dem Abscheiden des Sapogenins erhaltene Filtrat den resp. die Zuckerparlinge enthalten. Daher wurde das Filtrat auf Zucker geprüft. Es gab die Fehlingsche und die Bialsche Reaktion sehr deutlich, vor dem Zerkochen aber gar nicht.

**Tabelle XXII.**

**Wirkung des Sapogenins des neutralen Konvallarins.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 $cm^3$ enth. 5 mg | 1:1000 | sofort völlige Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | n. 20 Min. völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 1,0 mg | 1:5000 | „ 16 St. „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ 16 „ „ „ | |
| 2. | Meerschweinchenblut | 5 $cm^3$ enth. 4 mg | 1:2500 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ 16 „ part. „ | |
| 3. | Serumarmes Hundeblut | 5 $cm^3$ enth. 2,5 mg | 1:2000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:5000** |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 0,5 mg | 1:10000 | „ 16 „ part. „ | |
| 4. | Menschenblut | 5 „ „ 6 mg | 1:833 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ fast. „ | |

**Tabelle XXII.** (Fortsetzung.)

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 5. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 2 mg | 1:2500 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2500** |
| | | 10 „ „ 2 mg | 1:5000 | „ 16 „fast„ „ | |
| 6. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 2,5 mg | 1:2000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ fast „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ part. „ | |

Ein anderer Teil der Lösung des gereinigten Konvallarins, entsprechend 255 mg, wird erst etwas eingeengt, dann mit 5 cm³ verdünnter Schwefelsäure versetzt und eine Stunde lang zerkocht. Durch längeres Stehen auf Eis ballt sich der Niederschlag zusammen; er wird auf einem Filter gesammelt, gut mit Wasser gewaschen und mit heißem Essigäther in Lösung gebracht. Die Essigätherlösung wird verdunstet. Der Verdunstungsrückstand wird zwecks nochmaliger Reinigung in zwei Teile geteilt. Der eine Teil wird in absolutem Alkohol gelöst, mit Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt und dann der freiwilligen Verdunstung überlassen. Der andere Teil wird in Azeton gelöst und ebenfalls langsam verdunstet. Durch das Mikroskop betrachtet, sieht man bei beiden Rückständen einzelne kleine Kristalle. Die Substanz ist also kristallisationsfähig.

Ich lasse einige chemische Reaktionen mit dem Sapogenin des neutralen Konvallarins folgen.

1. Sapogenin + Furfurol-Schwefelsäure gibt eine schöne Rotfärbung.

2. Sapogenin + α-Naphthol-Schwefelsäure verhält sich ebenso. Das Gleiche gilt von Thymol-Schwefelsäure.

3. Sapogenin + konzentrierte Salzsäure gibt Rotfärbung, die bald in Violett übergeht und längere Zeit anhält.

4. Sapogenin + 1—2 Tropfen konzentrierter Salpetersäure gibt eine anhaltende, prachtvolle Himbeerrotfärbung.

5. Sapogenin + Chromsäure-Eisessig gibt beim Erwärmen Grünfärbung.

Ich lasse einige Versuche mit dem selbst dargestellten Sapogenin des neutralen Konvallarins an 3—4 cm langen Kaulquappen des Frosches folgen.

I. Glas. 100 cm³ Brunnenwasser + 2 Tiere als Kontrolle.
II. Glas. 100 cm³ Brunnenwasser, enth. 15 mg Sapogenin + 1 Tier. Konzentratinn 1 : 6666.
III. Glas. 100 cm³ Brunnenwasser, enth. 12 mg Sapogenin + 1 Tier. Konzentration 1 : 8333.
IV. Glas. 100 cm³ Brunnenwasser, enth. 10 mg Sapogenin + 1 Tier. Konzentration 1 : 10000.

Die Tiere in Glas I und IV sind nach 16 Stunden noch am Leben, während die in Glas II und III tot sind.

Mithin wirkt das Sapogenin des neutralen Konvallarins bei 1 : 8333 auf Kaulquappen des Frosches noch tödlich.

Fertig ausgebildete Land- und Wasserfrösche von 27—30 g ertrugen die Einspritzung von 2,5—5,0 mg in den Rückenlymphsack ohne zu erkranken.

Gesamtergebnis der Untersuchung des Merckschen Präparates „Konvallarin".

Durch Behandlung des Merckschen Präparates „Konvallarin" mit Essigäther wurde ein präformiertes Sapogenin gewonnen; nach Entfernung dieses präformierten Sapogenins wurde aus dem Rückstand, der noch immer ein Gemisch war, mittels alkalischem Wasser eine saure glykosidische Substanz, meine Konvallarinsäure, in Lösung gebracht und mit verdünnter Salzsäure gefällt. Das Filtrat enthielt das neutrale Konvallarin, gemischt mit kleinen Mengen Konvallamarin. Ein Teil der Konvallarinsäure und ein Teil des neutralen Konvallarins wurden zur Gewinnung der entsprechenden Sapogenine mit Schwefelsäure zerkocht. Durch Blutversuche mit dem präformierten Sapogenin, mit der Konvallarinsäure, mit dem neutralen Konvallarin, mit dem Sapogenin der Konvallarinsäure und mit dem Sapogenin des neutralen Konvallarins wurde festgestellt, daß alle diese Substanzen durchweg hämolytische Wirkungen besitzen. Das neutrale Konvallarin besitzt außerdem digitalinartige Wirkungen auf das Herz. Mit der Wirkung auf das Blut geht eine giftige Wirkung auf Kaulquappen Hand in Hand.

## 8. Untersuchung des Merckschen Handelspräparates „Konvallamarin".

Wie sich das Handelspräparat „Konvallarin" als ein Gemisch erwies, so gilt dies auch für das Handelspräparat „Konvallamarin".

## a) Einiges über das Verhalten des unzerlegten Präparates.

Ehe ich nun auf die Wirkungen eingehe, möchte ich erst wieder die üblichen Reaktionen durchgehen.

1. Konzentrierte Schwefelsäure ruft sofort eine Rotfärbung, die nach mehreren Stunden in eine blauviolette Färbung übergeht, hervor. Das Spektroskop zeigt einen intensiven Absorptionsstreifen im Rot, nahe am Gelb und einen weniger intensiven im Grün. Der diese Reaktion bedingende Teil des Handelspräparates erwies sich als in Alkohol löslich.

2. Furfurol-Schwefelsäure. Wird das Präparat auf dem Uhrglas mit 1 Tropfen 1% alkoholischer Furfurollösung + 1 cm³ konzentrierter Schwefelsäure versetzt, so tritt im Laufe einiger Stunden erst eine Rotfärbung, dann eine blauviolette, endlich eine blauschwarze Färbung ein. Der in Alkohol lösliche Teil des Handelspräparates färbt sich mit unserem Reagens sehr rasch intensiv kirschrot. Auch in Azeton, in heißem Chloroform und in Äther ist der die Reaktion gebende Teil nicht ganz unlöslich.

3. α-Naphthol-Schwefelsäure bewirkt nach kurzer Zeit eine violett-rote Färbung. Mit Eisessig verdünnt und dann spektroskopiert zeigt das Gemisch einen prachtvollen Streifen im Grün.

4. Thymol-Schwefelsäure läßt Rotfärbung und zwei schwache Absorptionslinien im Grün auftreten.

5. Kilianis-Reagens. Löst man ein wenig der Substanz in Eisessig, der etwas Ferrisulfat enthält und unterschichtet mit konzentrierter Schwefelsäure, die auch etwas Ferrisulfat enthält, so tritt nach einiger Zeit eine prachtvolle Rotfärbung ein, die später in Violettrot übergeht und noch am nächsten Tage zu sehen ist. Beim Spektroskopieren ist ein breiter Streifen im Grün wahrzunehmen, der auch einen Teil des Gelb mit auslöscht.

6. Mit konzentrierter Salzsäure erwärmt, nimmt die alkoholische Lösung unserer Substanz eine rote Farbe an. Konzentrierte Salpetersäure (1—2 Tropfen) wirkt ebenso. Verdünnt man nun und spektroskopiert, so ist ein Absorptionsstreifen im Gelb zu sehen.

7. Neßlers Reagens mit unserer Substanz erwärmt, nimmt eine grauschwarze Färbung an. Noch 0·5 mg Substanz gibt diese Reaktion.

8. Chromsäure-Eisessig gibt beim Erwärmen eine Grünfärbung.

9. Werden einige Tropfen einer frisch bereiteten Lösung von Ferricyankalium in destilliertem Wasser mit 1 Tropfen Eisenchlorid und dann mit unserer Substanz versetzt, so tritt durch Reduktion eine Blaufärbung des Gemisches ein.

10. Silbernitrat + Ammoniak gibt beim Erwärmen mit unserer Substanz nur eine geringe Dunkelfärbung und keine schwarze Fällung oder Silberspiegel.

11. Eine hellrote Lösung von Kaliumpermanganat gibt beim Erwärmen sofort eine Verfärbung und es erfolgt eine Abscheidung von Braunstein.

12. Eine frisch bereitete 10 proz. Lösung von Galläpfelgerbsäure gibt, wenn man einen Tropfen davon + einem Tropfen einer 0,5 proz. Merckschen Konvallamarinlösung versetzt, noch einen Niederschlag von weißer Farbe. Spurweises Ansäuern mit verdünnter Salzsäure erhöht die Empfindlichkeit der Reaktion, Erhitzen löst die gebildeten Niederschläge z. T. auf. Diese für die Isolierung vieler Herzglykoside brauchbare Fällung durch Gerbsäure erwies sich also zwar auch beim Konvallamarin von Merck brauchbar; da sie aber das Konvallarin z. T, auch mit ausfällt, ist sie zur quantitativen Trennung unbrauchbar.

13. Versetzt man Merckscbes Konvallamarin in wässeriger Lösung mit neutralem Bleiazetat, filtriert und setzt zum Filtrat Bleiessig, so tritt kein Niederschlag ein. Dagegen verhält sich Konvallamarin anders, da es durch Bleiessig aus dem Bleizuckerfiltrat quantitativ ausgefällt wird.

14. Versetzt man 1 $cm^3$ einer halbprozentigen wässerigen Konvallamarinlösung mit 1 $cm^3$ Merckscher Phosphorwolframsäure und 2 Tropfen verdünnter Salzsäure, so erhält man einen dicken, weißen, flockigen Niederschlag. Eine 0,1 proz. Lösung gibt jedoch mit Phosphorwolframsäure keine Reaktion mehr.

15. Phosphormolybdänsäure verhält sich analog. Da von beiden Fällungsmitteln das Konvallarin auch gefällt wird, so sind beide zur Trennung unserer Glykoside voneinander unbrauchbar.

16. Die meisten anderen Alkaloidreagentien, wie z. B. Quecksilberjodidjodkaliumlösung + etwas Mineralsäure und Pikrincitronensäure versagten, da unsere Substanz ja keine Base ist; nur Jodjodkalium gab in schwach salzsaurer Lösung einen dicken, braunen, flockigen Niederschlag.

Im großen und ganzen sind die Farbenreaktionen des Konvallamarins also denen des Konvallarins und der Konvallarinsäure ähnlich, so daß auf Grund dieser, eine Unterscheidung der drei Stoffe nicht möglich ist. Zur Trennung des Konvallarins und Konvallamarins eignet sich nur die Bleibehandlung.

Ich lasse jetzt in einer Tabelle eine Übersicht über die Blutversuche folgen.

## Tabelle XXIII.

**Wirkung des unveränderten Konvallmarins von Merck.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | sofort völlige Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 6 mg | 1:833 | n. 16 St. völlig. Häm. | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ part. „ | |
| 2. | Hammelblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:2000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ part. „ | |
| 3. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2000** |
| | | 10 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ fast „ | |
| 4. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | in 5 Min. völlig. Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | n. 16 St. „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | „ 16 „ „ „ | |
| 5. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | i. 1 St. 20 Min. tot. Häm. | **1:2000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | nach 16 St. „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | „ 16 „ „ „ | |
| 6. | Menschenblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 1:2000 | „ 16 „ part. „ | |
| 7. | Serumarm. Hundeblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | „ 16 „ part. „ | |
| 8. | Rinderbut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ part. „ | |
| 9. | Huhnblut | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | i. 1 St. 20 Min. völl. Häm. | **1:1000** |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 5 „ 20 „ „ „ | |
| | | 10 „ „ 5 mg | 2:2000 | n. 16 St. part. „ | |

Wie diese Tabelle zeigt, besitzt auch das Konvallamarin nach Prüfung des Handelspräparates hämolytische Wirkungen. Es kann dies zunächst nicht weiter auffallen, da ja auch einzelne andere Glieder der Digitalingruppe, z. B. das Helleborein, in diesem Sinne wirken.

Unter solchen Umständen war zu vermuten, daß das Präparat auch ziemlich starke Schaumkraft besitzen werde. In der Tat ergaben Versuche, daß noch bei einer Verdünnnng von **1:100 000** bei 1 Minute langem Schütteln der wässrigen Lösung ein längere Zeit bleibender Schaum entstand.

Auch an Kaulquappen schienen daraufhin Versuche lohnend. Sie ergaben, daß Froschquappen von 2—3 cm Länge bei einer Konzentration des Präparates in Wasser von **1:5000** noch binnen 16 Stunden abgetötet wurden.

Fische habe ich bei entsprechender Konzentration des Konvallamarins im Wasser nicht geprüft; ich habe nur festgestellt, daß bei 1:20 000 Aale nicht geschädigt wurden.

Ich lasse einige Froschversuche folgen. Es war von vornherein anzunehmen, daß bei subkutaner Einspritzung noch sehr kleine Dosen in der für die Gifte der Digitalingruppe charakteristischen Weise wirken würden.

Versuch I.

27. März 1915, 11 Uhr 15 Min. Rana temporaria männlich 30 g, erhält 1 mg Merckscbes Konvallamarin in den Rückenlymphsack subkutan.

3 Uhr. Tier tot vorgefunden. Die Sektion ergibt halbe Systole der Herzkammer. Konzentration des Giftes im Körper 1:30 000.

Versuch II.

29. März 1915, 11 Uhr 15 Min. Feldfrosch I 36 g, Feldfrosch II 39 g, beide männlich, erhalten je 1 $cm^3$ = 0,5 mg Konvallamarin in den Rückenlymphsack subkutan.

5 Uhr. Beide Tiere bewegungslos vorgefunden. Die Sektion ergibt beim Eröffnen des Brustkorbs noch leichte Bewegung der Fußspitzen. Das freigelegte Herz macht auf den Reiz der Freilegung hin noch eine Kontraktion, dann bleibt die Kammer in halbzusammengezogenem Zustande stehen.

Zwei weitere, gleich große Frösche, die je 0,25 bis 0,35 mg erhalten hatten, blieben gesund.

Also bei **1:72 000** und bei **1:78 000** wirkt das Konvallamarin von Merck bei Feldfröschen noch tödlich. Der Angriffspunkt der Wirkung ist das Herz. Bei Wiederholung am freigelegten Herzen ließ sich dies noch deutlicher zeigen. Die Saponine rufen, bei derartiger Verdünnung Fröschen eingespritzt, meist gar keine bedrohlichen Erscheinungen hervor.

**b) Über das dem Handelspräparate beigemischte Sapogenin.**

1 g Merckscbes Konvallamarin wird mit Essigäther mehrfach ausgekocht und das heiß gewonnene Filtrat in einer gewogenen Schale verdunstet. Der Rückstand ähnelt dem präformierten Sapogenin des Konvallarins von Merck. Die Ausbeute beträgt 0,9 %. Die erhaltene weiße Substanz, war zunächst chemisch und dann biologisch zu prüfen.

Ich lasse von den üblichen chemischen Reaktionen nur zwei folgen, die eine deutliche Färbung gaben:

1. Furfurol-Schwefelsäure liefert beim Unterschichten sofort einen roten Ring. Beim Durchschütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit rot, dann violett.

2. Konzentrierte Salzsäure färbt sich beim Kochen mit unserer Substanz langsam rot.

Die übrigen Reaktionen waren unbefriedigend. Man gewinnt dadurch den Eindruck, daß die Hauptmenge der Substanz eine fremde ist, die nur infolge Gehalts von kleinen Sapogeninmengen die genannten empfindlichen Reaktionen gibt.

Daraufhin war bei Blutversuchen keine starke Wirkung zu erwarten. Ich begnügte mich mit folgenden wenigen.

**Tabelle XXIV.**
**Wirkung der in Essigäther löslichen Substanz aus dem Konvallamarin von Merck.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 3 mg | 1:1666 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:2500** |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | „ 16 „ „ „ | |
| | | 5 „ „ 1 mg | 1:5000 | „ 16 „ part. „ | |
| 2. | Kaninchenblut | 5 cm³ enth. 3 mg | 1:1667 | n. 16 St. völlig. Häm. | **1:1667** |
| | | 5 „ „ 1,5 mg | 1:3333 | „ 16 „ partielle „ | |

Wie die Tabelle zeigt, scheint in der Tat ein präformiertes Sapogenin in der aus dem Konvallamarin von Merck mittels Essigäther gewonnenen Substanz enthalten zu sein. Die Grenze, bei der noch völlige Hämolyse eintritt, liegt für Hammelblutkörperchen bei 1:2500 und für Kaninchenblut bei 1:1667.

Ob dieses Sapogenin mit dem in dem käuflichen Konvallarin enthaltenen identisch ist, konnte ich nicht feststellen; es ist aber wohl anzunehmen, daß dies der Fall ist.

### c) Uber das gereinigte Konvallamarin.

Es lag nahe, das mit Essigäther erschöpfte Kovallamarin jetzt von neuem zu prüfen. Es geschah in derselben Weise, wie vor der Reinigung.

Die chemischen Reaktionen fielen fast in derselben Weise wie vor der Reinigung aus. Ich führe sie daher nicht einzeln auf. Dagegen hat die Tabelle über die Wirkung auf Blut einiges Interesse.

**Tabelle XXV.**

**Wirkung des gereinigten Konvallamarins.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | n. 16 St. völlig. Häm. | 1:833 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ 16 „ fast völl. „ | |
| 2. | Meerschweinchenblut | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | n. 16 St. völlig. Häm. | 1:833 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1350 | „ 7½ „ fast völl. Häm. | |
| | | 5 „ „ 2 mg | 1:2500 | früh fast völlig. „ | |
| 3. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | n. 16 St. völlig. Häm. | 1:833 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | „ 16 „ partielle „ | |
| 4. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 6 mg | 1:833 | früh totale Hämol. | 1:833 |
| | | 5 „ „ 4 mg | 1:1250 | früh fast totale Häm. | |

Wie der Vergleich mit der Tabelle auf S. 79 zeigt, wirkt das Mercksche Präparat Konvallamarin ungereinigt stärker hämolytisch als gereinigt. Dies ist verständlich, da das als Verunreinigung darin enthaltene präformierte Sapogenin an sich hämolytisch wirkt. Nun schaffte ich mir dadurch ganz reines Konvallamarin, daß ich das Präparat durch Bleiessig auch noch von Spuren von Konvallarin befreite. Das Filtrat wirkte nach dem Entbleien so gut wie nicht auf Blut. Es lag nur an meiner nicht ganz vollkommenen Reinigungsmethode, daß ich für die Versuche von Tabelle XXV ein nicht ganz inaktives Konvallamarin zur Verfügung hatte.

Es kam jetzt darauf an, auch die Wirkung auf Kaulquappen von neuem festzustellen. Da diese Tierchen der Wirkung von digitalinartigen Stoffen unterliegen, war nicht

anzunehmen, daß das gereinigte Konvallamarin auf sie wirkungslos sein würde.

Die nachstehenden Versuche beziehen sich auf Kaulquappen des Frosches von 2—4 cm Länge.

I. Glas 200 cm³ Brunnenwasser + 2 Tiere als Kontrolle. 11 Uhr.
II. Glas 50 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 20 mg gereinigtes Konvallamarin + 1 Tier.
Konzentration: 1:2500. 11 Uhr 10 Min.
III. Glas 200 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 40 mg gereinigtes Konvallamarin + 1 Tier.
Konzentration: 1:5000. 11 Uhr 20 Min.
IV. Glas 250 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 40 mg gereinigtes Konvallamarin + 1 Tier.
Konzentration: 1:6500. 11 Uhr 30 Min.
V. Glas 150 cm³ Brunnenwasser, enthaltend 20 mg gereinigtes Konvallamarin + 1 Tier.
Konzentration: 1:7500. 11 Uhr 40 Min.

Die Kontrolltiere in Glas I blieben am Leben, während die Kaulquappen in Glas II nach 7½ Stunden und die anderen in Glas III, IV und V am folgenden Vormittag tot waren.

Das gereinigte Konvallamarin übt also stärkere Wirkungen auf Kaulquappen des Frosches aus als das ungereinigte. Es tötet sie — wohl durch Herzstillstand — noch bei **1:7500,** während letzteres nur noch bei 1:5000 abtötend wirkte.

**d) Versuche mit hydrolytisch gespaltenem Konvallamarin.**

Ein dem Sapogenin der Saponine entsprechendes Konvallamarinderivat wurde auf zwei verschiedene Arten dargestellt.

125 mg Konvallamarin-Merck werden mit 3 cm³ Schwefelsäure und 125 cm³ Wasser zwei Stunden im Wasserbade zerkocht. Es scheidet sich ein dunkler Niederschlag ab; dieser wird abfiltriert, mit destilliertem Wasser ausgewaschen, in 12,5 cm³ physiologischer Kochsalzlösung + 1 Tropfen Alkali gelöst und neutralisiert. Die Flüssigkeit enthält in 1 cm³ das dem Sapogenin entsprechende Produkt aus 10 mg Konvallamarin, also sogenanntes Konvallamaretin.

Es kam mir bei diesen Spaltungsversuchen nicht darauf an, wirklich das ganz zuckerfreie Aglykon zu gewinnen, da die Endsapogenine ja meist unlöslich sind. Wir wollten gerade die Frage beantworten, ob das von uns in der Weise der Anfangssapogenine gewonnene sekundäre Glykosid noch hämolytisch wirkt. Ich lasse meine Versuche in nachstehender Tabelle zusammengefaßt folgen.

**Tabelle XXVI.**

**Wirkung des hydrolytisch zerkochten Konvallamarins.**

| Lfd. Nr. | Blutpräparat | Menge und Volumen | Konzentration | Erfolg | Grenze der Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Hammelblutkörperchen | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | n. 16 St. völlig. Häm. | 1:500 |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | „ 16 „ part. „ | |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | „ 16 „ keine „ | |
| 2. | Menschenblut der Plazenta | 5 cm³ enth. 10 mg | 1:500 | n. 24 St. nur partiell. | — |
| | | 5 „ „ 7,5 mg | 1:666 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | |
| | | 5 „ „ 5 mg | 1:1000 | | |
| | | 5 „ „ 3 mg | 1:1666 | | |
| 3. | Menschenblut vom Erwachsen. | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | — |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | | |
| 4. | Rinderblut | 5 cm³ enth. 7,5 mg | 1:666 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | — |
| 5. | Hühnblut | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | — |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | | |
| 6. | Hundeblut | 5 cm³ enth. 15 mg | 1:333 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | — |
| | | 5 „ „ 10 mg | 1:500 | | |
| 7. | Katzenblut | 5 cm³ enth. 5 mg | 1:1000 | Binnen 24 Stunden keine Hämolyse | — |
| | | 5 „ „ 2,5 mg | 1:2000 | | |

Das sog. Sapogenin des Merckschen Konvallamarins besizt also keine hämolytischen Wirkungen für Blut. Nur bei Hammelblutkörperchen war eine ganz geringe hämolytische Wirkung zu sehen, die wohl auf Sapogenin von Konvallarin zu beziehen ist. Um dies klar zu stellen, wurde vor dem Zerkochen das Konvallamarin mit Essigäther behandelt und dann auch noch mittels Bleiessig gereinigt. Dieses gereinigte Konvallamarin gab mit Mineralsäure zerkocht, ein Spaltungsprodukt, das keinerlei hämolytische Wirkungen mehr besaß, selbst nicht auf Hammelblutkörperchen. Das bei dieser Spaltung entstandene Filtrat enthielt reichlich Zucker; es gab mit Fehlingscher Lösung und mit Bials Reagens Ausschlag.

Es kam mir jetzt noch darauf an, daß Konvallamaretin auf seine Reaktionen und auf seine Herzwirkung zu prüfen.

Nach zweistündigem Zerkochen von 100 $cm^3$ 2 proz. Konvallamarinlösung mit 5 $cm^3$ Schwefelsäure im Wasserbade und Abkühlen wird der erhaltene Niederschlag abfiltriert, so lange mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagiert, und das Spaltungsprodukt in heißem Essigäther gelöst ist. Es löst sich nur ein Teil darin sofort; der Rückstand wird mittels heißem Alkohol in Lösung gebracht. Die alkoholische Lösung und die Essigätherlösung werden gemischt und in einer gewogenen Schale verdunstet.

Von chemischen Reaktionen führe ich die folgenden an:

1. Beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure entsteht sofort ein roter Ring; beim Durchschütteln nimmt die Flüssigkeit eine rote Farbe an.

2. Furfurol-Schwefelsäure liefert beim Unterschichten an der Grenze eine rote Zone. Beim Durchschütteln nimmt die Flüssigkeit eine grünbraune und beim Verdünnen mit Alkohol eine violett-rote Farbe an.

3. Vanillin-Schwefelsäure gibt eine rosa Färbung, die aber rasch verblaßt.

4. α-Naphthol-Schwefelsäure ruft sofort eine prachtvolle, kirschrote Färbung hervor.

5. Mit Thymol-Schwefelsäure tritt sofort eine intensive Rotfärbung ein.

6. Benzaldehyd-Schwefelsäure färbt schön rosa.

7. Essigsäureanhydrid - Schwefelsäure, vorsichtig angewandt, liefert eine prachtvolle Rotfärbung. Beim Spektroskopieren ist ein Absorptionsstreifen im Grün zu sehen.

8. Kilianis-Reagens liefert beim Durchschütteln eine rote Farbe.

9. Konz. Salzsäure gibt schon ohne Erwärmen eine himbeerrote Färbung.

10. Konz. Salpetersäure gibt sofort eine Rotfärbung.

11. Beim Erwärmen mit Nesslers Reagens scheidet sich ein schwärzlicher Niederschlag ab.

12. Chromsäure-Eisessig gibt beim Erwärmen Grünfärbung.

Das Sapogenin des gereinigten Konvallarins gibt ebenfalls mit konz. Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure eine Rotfärbung, verhält sich überhaupt bei allen Farbenreaktionen ähnlich, so daß sich auf Grund dieser Reaktionen beide Substanzen nicht unterscheiden lassen.

Es war jetzt noch durch Tierversuche zu entscheiden ob das Konvallamarin beim Zerkochen seine starke Herzwirkung beibehalten hatte.

Versuch I.

22. Juli 1915, 10 Uhr 50 Min. Eine Rana esculenta von 30 g, erhält 5 mg vom Aglykon des Konvallamarins in den Rückenlymphsack.

4 Uhr 30 Min. und 6 Uhr 15 Min. ist er gesund.

23. Juli 1915. Der Frosch bleibt gesund.

Es zeigt sich, daß der Frosch bei 5 mg vom Aglykon des Konvallamarins, also bei 1:6000 des Körpergewichtes am Leben bleibt.

Versuch II.

9. August 1916, 12 Uhr 54 Min. Eine Rana temporaria von 21 g, erhält 10 mg und eine zweite von 18 g, erhält 5 mg vom Aglykon des Konvallamarins in den Rückenlymphsack subkutan injiciert.

10. August 1916. Beide Tiere bleiben gesund.

Das Konvallamaretin wirkt selbst bei **1:2100** auf Feldfrösche nicht tödlich.

Versuch III.

27. Juli 1915, 12 Uhr 15 Min. Ein Meerschweinchen erhält 10 mg Konvallamaretin subkutan injiziert.

28. und 29. Juli 1915. Das Tier bleibt gesund. Die Harnuntersuchungen ergeben weder Eiweis noch Zucker. Das Tier nimmt ebenso wie vor der Injektion reichlich Nahrung zu sich.

Das gespaltene Konvallamarin hat also nicht nur keine Blutwirkung, sondern hat auch seine Herzwirkung für Frösche und Meerschweinchen verloren.

## Gesamtergebnis der Untersuchung des Merckschen Präparates „Konvallamarin".

Das Präparat „Konvallamarin" von Merck enthält neben eigentlichen Konvallamarin noch ein Sapogenin sowie Spuren von Konvallarin. Beide besitzen in mäßigem Grade hämolytische Wirkungen. Konvallamarin und das beigemischte Sapogenin zeigen sehr ähnliche Farben-Reaktionen wie Konvallarin und sein Sapogenin. Das Konvallamarin wirkt im Sinne der Substanzen der Digitalingruppe auf Frösche infolge systolischen Herzstillstandes tödlich. Diese Wirkung tritt noch bei recht kleinen Dosen ein.

Schlußfolgerungen aus der ganzen Arbeit.

Meine Untersuchung der Convallaria majalis ergab, daß die Pflanze in allen ihren Teilen, also im Kraut, in den Blüten. in den Wurzeln und in den Beeren, neben dem bekannten Herzgift Konvallamarin noch zwei Glykoside enthält. Das erste wird durch Zusatz von Mineralsäure neben Pentosanen, Farbstoffen usw. aus dem schwachalkalischen Dekokt ausgefällt und ist ein saures Saponin. Es ist von mir als Konvallarinsäure bezeichnet worden. Es besitzt im Reagensglas bemerkenswerte hämolytische Wirkungen und schäumt in nicht sauren, wässerigen Lösungen. Die zweite Substanz, die nach Entfernung der Konvallarinsäure aus dem Filtrate allerdings in keineswegs reinem Zustande erhalten wurde, ist ein neutrales Saponin, das folgerichtig als neutrales Konvallarin bezeichnet werden muß. Zur weiteren Reinigung muß seine wässerige Lösung mit neutralem Bleiazetat gefällt und das Filtrat mit Bleiessig im Überschuß versetzt werden. Der dabei entstehende Niederschlag enthält nur das Konvallarin. Schwefelwasserstoff macht es daraus frei.

„Convallarine" von Laigre[1]) ist, wie dieser Autor ausdrücklich sagt, eine in Wasser unlösliche Substanz, die aus der alkoholischen Lösung mittels Verdünnen durch Wasser niedergeschlagen wird. Danach kann sie keine Spur von meinem neutralen Konvallarin enthalten, sondern dürfte höchstens aus meiner Konvallarinsäure bestehen. Laigre sagt von seiner Substanz: „elle perd une grande partie de son activité physiologique (gemeint ist Giftigkeit) pendant les opérations chimiques necessitées par son extraction". Diese Angabe paßt vortrefflich auf die Konvallarinsäure.

Was das Mercksche Präparat „Konvallarin" anbelangt, so wurde festgestellt, daß es kein einheitliches ist, sondern aus drei Substanzen besteht. Zwei dieser Substanzen sind mittels Mineralsäure ausfällbar. Die eine ist Konvallarinsäure, die andere ein im Präparat präformiert vorhandenes Sapogenin; die dritte ist neutrales Konvallarin. Die von Lindner veröffentlichten Elementar-Analysen dieses Gemisches haben natürlich keinen Wert.

[1]) Étude physiologique du Convallaria majalis et de ses principes actifs. Thèse pour le Doctorat en Médecine par Joseph Laigre, Paris, 15. jouillet 1903.

Die Wirkung der drei Glykoside unserer Pflanze auf das Herz ist sehr verschieden. Konvallamarin wirkt digitalinartig. Während die Konvallarinsäure bei mäßigen Dosen gar nicht auf das Herz im Sinne der Digitalis einwirkt und daher bei subkutaner Einführung keine Schädigung bei Warm- und Kaltblütern hervorruft, hat das neutrale Konvallarin auch nach völliger Entfernung des in der Droge nebenbei vorhandenen Konvallamarins wie letzteres eine im Sinne des Digitalins auf das Herz gerichtete Wirkung. Das präformierte Sapogenin des Merckschen Präparates zeigt, in kleinen Dosen injiciert, sich wie die Konvallarinsäure wirkungslos.

Was die hämolytische Wirkung anbetrifft, so verhalten sich drei der genannten Substanzen ähnlich. Am stärksten hämolytisch wirkt die Konvallarinsäure, 1 : 50000, dann folgt das präformierte Sapogenin des Merckschen Konvallarinpräparates, 1 : 25000, und noch schwächer wirkt neutrales Konvallarin, 1 : 8000.

Parallel der hämolytischen Wirkung geht bei diesen drei Substanzen eine spezifische Saponinwirkung auf Kiemen und Haut der Kaulquappen und Fische.

Hinsichtlich der Farbenreaktionen zeigen diese drei Substanzen ein sehr ähnliches Verhalten.

Die Untersuchung des Merckschen Präparates „Konvallamarin“ zeigte, daß auch dieses Präparat keine einheitliche Substanz ist, sondern wie das Mercksche Konvallarin präformiertes Sapogenin, endlich auch eine Spur Konvallarin enthält. Das Mercksche Konvallamarin besitzt typische Digitalinwirkung aufs Herz; nebenbei wirkt es durch seine Verunreinigungen schwach hämolytisch. Unterscheidende Farbenreaktionen zwischen Konvallarin und Konvallamarin gibt es nicht; letzteres ist vom neutralen Konvallarin fast nur durch die Nichtfällbarkeit mittels Bleiessig unterschieden, sowie ferner durch das verschiedene Verhalten der aus beiden dargestellten Sapogenine gegen Blut, indem das Sapogenin des Konvallarins noch hämolytisch wirkt, das Spaltungsprodukt des Konvallamarins aber nicht.

Wie in den Digitalisblättern, in den Digitalissamen und im Kraute von Adonis vernalis, so sind auch im Kraute von Convallaria majalis zwei verschiedene spezifische Herzgifte neben Saponinsubstanzen vorhanden. In den Digitalisblättern sind diese Herzgifte das Digitoxin und das früher meist als

Digitalein bezeichnete, von Kraft dann weiter zerlegte Substanzgemisch; in den Digitalissamen sind es Digitalinum verum und Digitalein; in Adonis vernalis sind es Adonidin und die Adonidinsäure von Fuckelmann, die gleichzeitig Saponincharakter hat. In allen Teilen des Maiblümchens ist neben Konvallamarin das neutrale Konvallarin enthalten, das neben der Herzwirkung auch Saponinwirkung besitzt. Die Die daneben noch vorhandene Konvallarinsäure hat keinerlei Herzwirkung, sondern wie das Digitonin reine Saponinwirkung.

Wie die Adonis in Form von Pillen aus gleichen Teilen Extractum Herbae Adonidis spissum und Herba Adonidis ein vorzügliches Mittel für solche Patienten, die gegen Digitalis oder Strophantus Idiosynkrasie besitzen, ist, so dürften auch Pillen aus gleichen Teilen Extractum Herbae Convallariae spissum und Herba Convallariae in gleichem Sinne verwendbar und lange haltbar sein. Da wir jetzt ja die einheimischen Heildrogen wieder höher schätzen als in den letzten Jahrzehnten, dürfte die Maiblümchentherapie der Herzkranken doch gewiß wieder neu geprüft werden. Die Abtrennung der Saponinstoffe von den digitalinartig wirkenden dürfte wie für Adonis, so auch für Convallaria sich als nutzlos erweisen.

Ich hoffe durch meine Verarbeitung der verschiedenen Teile der Convallaria einige Lücken unserer Kenntnis betreffs der Saponine dieser Droge ausgefüllt zu haben.

---

Es gereicht mir zu großer Freude, Herrn Geh. Rat Kobert auch an dieser Stelle für die liebenswürdige Überlassung des Untersuchungsmaterials und die mir gewährte Unterstützung herzlich zu danken; sowie allen denen, die mir fördernd zur Seite standen.

# Lebenslauf.

Am 11. Februar 1892 wurde ich als älteste Tochter des (inzwischen verstorbenen) Eisenbahndirektors L. Hirschberg in Berlin geboren (Preuß. Staatsangeh.). Ich besuchte von Oktober 1898 an die Lyceen in Berlin, Königsberg i. Pr. und Rostock. Nach Absolvierung des Lyceums 1908, begann ich an der Meckl. Landes-Universität zu Rostock Naturwissenschaften, Chemie als Hauptfach zu studieren und arbeitete nebenbei im Hygienischen Institut (Geh. Rat Prof. Dr. Pfeiffer). Gleichzeitig bereitete ich mich zum Abiturientenexamen vor, mußte jedoch diesen Unterricht wegen schwerer Erkrankung abbrechen.

1911/12 bestand ich das Verbandsexamen und durchlief das vorgeschriebene Studium weiter bis auf die Promotion. Während dieser Zeit fertigte ich bei meinem akad. Lehrer Herrn Geh. Prof. Dr. A. Michaelis eine größere Arbeit an.

Dann wandte ich mein Interesse der medizinischen Chemie zu, machte nach Erreichung der nötigen theoretischen und praktischen Kenntnisse eine wissenschaftliche Arbeit bei Prof. Dr. J. Meinertz (Univ.-Krankenhaus). Darauf hörte und arbeitete ich bei Geh. Mediz.-Prof. Dr. R. Kobert, wo ich meine jetzige Doktorarbeit anfertigte, die nach dessen Tode, liebenswürdiger Weise von Prof. Dr. Stoermer referiert wurde.

Durch die pharmakologische Arbeit erwachte das Interesse für Physiologie in mir und setzte ich daher mein wissenschaftliches Arbeiten auf diesem Gebiete fort.

Als es im Kriege an Assistentenkräften fehlte, sprang ich auf das Anerbieten des Direktors des physiologischen Institutes Prof. Dr. Winterstein als wissenschaftliche Hilfsarbeiterin ein. Als Kriegsvertretung hatte ich ferner die Leitung des Stoffwechsel-Laboratoriums des städtischen Krankenhauses in Stettin und war später in Berlin bei Prof. Rona und kurze Zeit in der Industrie tätig.

In der Inflationszeit kehrte ich nach Rostock zurück und arbeitete wieder wissenschaftlich (Vgl. die auf der letzten Seite veröffentlichten 17 wissenschaftlichen Arbeiten) im physiologischen Institut. An Stelle des abgebauten Assistenten wurde ich am physiol. Institut angestellt.

Im Oktober 1927 bestand ich die Ersatz-Reifeprüfung (nach den Bestimmungen für Hochbegabte) im Kultusministerium in Berlin und legte im Februar 1928, auf Grund der inzwischen erweiterten Bestimmungen für das Verbandsexamen, eine Prüfung in physikalischer Chemie ab.

## Bereits erschienene wissenschaftliche Arbeiten:

1. „Die quantitative Bestimmung von geringen Mengen Traubenzucker im Harne mittels der Bertrand'schen Methode. Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. 86, S. 487 (1913).

2. „Beiträge zur Kenntnis der Pharmakologie des Maiblümchens". Sonderabdruck aus Kobert: „Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen II. Verlag von Friedr. Enke, Stuttgart (1917).

3. „Über den Zuckerstoffwechsel der nervösen Zentralorgane". Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. 100, S. 185 (1917).

4. Über den Stickstoffumsatz der nervösen Zentralorgane". Dieselbe Zeitschrift Bd. 101, S. 212 (1918).

5. „Der Umsatz verschiedener Zuckerarten im Stoffwechsel der nervösen Zentralorgane". Dieselbe Zeitschrift Bd. 101, S. 248 (1918).

6. „Über den Umsatz von Fettsubstanzen in den nervösen Zentraltralorganen". Dieselbe Zeitschrift Bd. 105, S. 1 (1919).

7. „Stickstoff-sparende Substanzen im Stoffwechsel der nervösen Zentralorgane". Dieselbe Zeitschrift Bd. 108, S. 9 (1919).

8. „Fettsparende Substanzen im Stoffwechsel der nervösen Zentralorgane". Dieselbe Zeitschrift Bd. 108, S. 21 (1919).

9. „Über den Stoffwechsel des peripheren Nervensystems". Dieselbe Zeitschrift Bd. 108, S. 27 (1919).

10. „Die Verwertung von „Calorose" im Stoffwechsel". Dieselbe Zeitschrift Bd. 108, S. 24 (1919).

11. „Über den Einfluß der Temperatur auf die Oberflächenspannung narkotischer Stoffe". Bioch. Zeitschrift Bd. 100, S. 81 (1919).

12. „Über Ammoniakbildung im Nervensystem". Dieselbe Zeitschrift Bd. 156, S. 138 (1925).

13. „Über den Glykogen- und Cerebrosidstoffwechsel des Zentralnervensystems. Dieselbe Zeitschrift Bd. 159, S. 351 (1925).

14. „Neue Versuche über den Stickstoffumsatz in den Nervenzentren". Dieselbe Zeitschrift Bd. 167, S. 401 (1926).

15. „Alles oder Nichts-Gesetz und Stoffwechsel". Pflügers Archiv Bd. 216, S. 271 (1927).

16. „Über Löslichkeit und Verteilung des Chloroforms im Blute" Bioch. Zeitschrift Bd. 186, S. 172 (1927).

17. „Über die Permeabilität von Muskelmenbranen". Pflügers Archiv Bd. 217, S. 216 (1927).